

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ
«БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені Данила Галицького**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ГАРВАСЮК ОЛЕКСАНДРА ВАСИЛІВНА

УДК 611-013.85:618.39-021.3

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПАТОЛОГІЧНА АНАТОМІЯ ПЕРЕДЧАСНОГО ДОЗРІВАННЯ ПЛАЦЕНТИ
ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНІЙ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ**

14.03.02 – патологічна анатомія

22 «Охорона здоров'я»

222 «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і
текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.В. Гарвасюк

Науковий керівник:

Давиденко Ігор Святославович
доктор медичних наук, професор

Чернівці – 2020

АНОТАЦІЯ

Гарвасюк О.В. Патологічна анатомія передчасного дозрівання плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 «Патологічна анатомія» (222 «Медицина»). – Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», Чернівці, 2020; Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького Міністерство охорони здоров'я України, Львів, 2020.

Дисертація присвячена вивченню патологічної анатомії передчасного дозрівання плаценти у жінок з залізодефіцитною анемією вагітних (ЗДАВ).

Одним із пріоритетних завдань сучасної медицини є покращення діагностики плацентарної недостатності, у тому числі з урахуванням порушень дозрівання хоріального дерева плаценти. Передчасне дозрівання хоріального дерева може служити морфологічною основою для виникнення хронічної недостатності посліду, оскільки існує імовірність виникнення невідповідності між потребами плода та можливістю плаценти забезпечити ці потреби. Вплив ЗДАВ на морфологічну картину передчасного дозрівання плаценти не вивчений, отже, це ускладнює патоморфологічну діагностику нюансів хронічної плацентарної недостатності, які можуть виникати при поєднанні вказаних патологій.

Метою дослідження стало удосконалення морфологічної діагностики передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у двох термінах вагітності 29-32 та 33-36 тижнів на основі оцінки кількісних значень морфологічних, гістохімічних та імуногістохімічних ознак.

Завданнями дослідження було встановити гістологічні особливості хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у порівнянні

з фізіологічною вагітністю в терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів; з'ясувати роль ключового фактора передчасних пологів – ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти в поєднанні з залізодефіцитною анемією за допомогою імуногістохімічного методу; оцінити рівень продукції трофобластом хоріальних ворсинок плацентарного лактогену, хоріонічного гонадотропіну та плацентарної лужної фосфатази та особливості їх розподілу згідно з імуногістохімічним дослідженням, а також активність плацентарної лужної фосфатази гістохімічним методом при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних у терміни 29-32 та 33-36 тижнів вагітності; визначити рівні експресії віментину в цитоплазмі фібробластів та ендотеліоцитів ворсинок плаценти при залізодефіцитній анемії в поєднанні з передчасним дозріванням хоріального дерева; встановити особливості процесів обмеженого протеолізу та окиснювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти гістохімічним методом при поєднанні передчасного дозрівання хоріального дерева та залізодефіцитної анемії вагітних; встановити особливості проліферативних процесів та апоптозу в окремих клітинах хоріальних ворсинок плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних та передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти. Для досягнення поставленої мети всього було досліджено 182 плаценти та здійснено аналіз карт породіль. Було сформовано такі групи спостереження: 18 плацент з передчасним дозріванням хоріального дерева на фоні ЗДАВ у 29-32 тижнів вагітності (група 1 – основна); 19 плацент з передчасним дозріванням хоріального дерева без анемії при пологах у 29-32 тижнів вагітності (група 1А – порівняння); 20 плацент, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації на фоні ЗДАВ 29-32 тижнів вагітності (група 1Б – порівняння); 21 плацента, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації без будь-якої анемії у 29-32 тижнів вагітності (група 1В – порівняння); 20 плацент з передчасним дозріванням хоріального дерева на фоні ЗДАВ у 33-36 тижнів

вагітності (група 2 – основна); 22 плаценти з передчасним дозріванням хоріального дерева без будь-якої анемії при пологах у 33-36 тижнів вагітності (група 2А – порівняння); 20 плацент, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації на фоні ЗДАВ у 33-36 тижнів вагітності (група 2Б – порівняння); 21 плацента, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації без будь-якої анемії у 33-36 тижнів вагітності (група 2В – порівняння); 21 плацента з фізіологічними пологами у термін гестації 37-40 тижнів вагітності (група контролю).

Застосовувались такі методи дослідження: макроскопічні, гістологічні, гістохімічні, імуногістохімічні, морфометричні, статистичні.

Установлено, що особливостями передчасного дозрівання хоріального дерева при ЗДАВ у термін гестації 29-32 тижні є наступні ознаки: в цілому морфометричні параметри хоріального дерева не досягають рівня фізіологічної вагітності ($P < 0,05$); ступінь зрілості хоріальних ворсинок менший, ніж при передчасному дозріванні хоріального дерева без анемії, що виражається у меншому сумарному відсотку термінальних і термінальних «спеціалізованих» ворсинок, але більшим відсотком проміжних незрілих ворсинок ($p = 0,008$). У термін гестації 33-36 тижнів морфометричні параметри хоріального дерева не досягають рівня фізіологічної вагітності ($p = 0,006$), хоча у вагітних без анемії – досягають ($p > 0,05$); ступінь зрілості хоріальних ворсинок менший, ніж при передчасному дозріванні хоріального дерева без анемії, що виражається у зменшенні відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок, у розподілі відсотків поміж проміжних ворсинок у бік незрілих, у збільшенні відсотка трофобластичних та вільозних відростків.

Під час виконання роботи була проведена методика із моноклональними антитілами виробників DakoCytomation (Denmark-USA) проти ряду антигенів, таких як плацентарний лактоген, хоріонічний гонадотропін, плацентарна лужна фосфатаза, 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази, проапоптотичний протеїн Вах; протиапоптотичний протеїн Bcl-2; проліферативний ядерний нуклеарний антиген Ki-67; віментин. У імуногістохімічних реакціях використовувалася

полімерна система візуалізації антитіл LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин) виробника DakoCytomation (Denmark-USA).

За допомогою імуногістохімічного методу нами оцінена синтетична функція плаценти в умовах передчасного дозрівання в поєднанні зі ЗДАВ. Зокрема, імуногістохімічна концентрація плацентарного лактогену в трофобласті хоріальних ворсинок при передчасному дозріванні хоріального дерева є парадоксально низькою ($p1A < 0,001$; $p1B < 0,001$, $p2A = 0,003$, $p2B = 0,002$) та характеризується величинами, які близькі для нормального дозрівання хоріального дерева при передчасних пологах. Проте в однакові терміни гестації при ЗДАВ експресія плацентарного лактогену в трофобласті хоріальних ворсинок завжди знижена порівняно з вагітними без анемії, навіть незважаючи на ступінь морфологічної зрілості хоріального дерева плаценти.

Оптична густина імуногістохімічного забарвлення хоріонічного гонадотропіну в трофобласті хоріальних ворсинок із передчасним дозріванням хоріального дерева для обох вивчених термінів вагітності – висока ($p1A < 0,001$, $pB < 0,001$, $p2A = 0,003$, $p2B < 0,001$). У групах за наявності ЗДАВ імуногістохімічні показники хоріонічного гонадотропіну в трофобласті хоріальних ворсинок є нижчими, ніж без анемії, незалежно від того чи присутнє передчасне дозрівання хоріального дерева ($p1A < 0,001$).

Установлено, що як оптична густина імуногістохімічного забарвлення плацентарної лужної фосфатази, так і її активність при передчасних пологах, незалежно від ступеня дозрівання хоріального дерева та стану крові вагітних, є суттєво нижчими, ніж при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Оптична густина імуногістохімічного забарвлення плацентарної лужної фосфатази завжди нижча при анемії вагітних порівняно зі спостереженнями без анемії ($p < 0,001$). При цьому факт передчасного дозрівання хоріального дерева суттєвого значення не має. Щодо активності плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок відзначено відмінність у середніх показниках поміж різними термінами гестації. Зокрема, у термін гестації 33-36 тижнів фіксується зниження активності ферменту при анемії вагітних. Однак у термін гестації 29-

32 тижні активність плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок не залежить від стану крові вагітної.

Проаналізовано результати імуногістохімічного визначення ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11β -HSD-2) в СТ хоріальних ворсинок плаценти. Встановлено, що оптична густина імуногістохімічного забарвлення ферменту 11β -HSD-2 при передчасному дозріванні хоріального дерева без анемії в обох термінах вагітності перевищують показник ферменту при фізіологічній вагітності ($p<0,001$). Оптична густина імуногістохімічного забарвлення ферменту 11β -HSD-2 при передчасних пологах на фоні ЗДАВ для обох вивчених термінів вагітності близька до показника фізіологічної вагітності. У групах зі ЗДАВ показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення ферменту 11β -HSD-2 завжди нижчі, ніж у спостереженнях без анемії ($p1A=0,005$, $p2A=0,007$).

Встановлено, що при фізіологічній вагітності рівень обмеженого протеолізу та окиснювальної модифікації білків (ОМБ) в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок в середньому є нижчим, ніж при передчасних пологах незалежно від рівня морфологічного дозрівання хоріального дерева та наявності ЗДАВ ($p<0,001$). Найбільший рівень обмеженого протеолізу та ОМБ в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок відзначається при поєднанні передчасного дозрівання хоріального дерева та ЗДАВ ($p<0,001$). Рівень обмеженого протеолізу та ОМБ в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти при ЗДАВ, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації, у середньому є вищим у порівнянні з групами жінок без анемії ($p<0,001$). Вказана закономірність притаманна обом дослідженим термінам – 29-32 та 33-36 тижні вагітності.

Оцінюючи ступінь експресії віментину в цитоплазмі фібробластів та ендотеліоцитів проміжних та термінальних ворсинок плаценти, ми встановили, що визначення віментину в цитоплазмі фібробластів та ендотеліоцитів проміжних і термінальних ворсинок плаценти може служити критерієм зрілості хоріального дерева плаценти. Встановлено, що ЗДАВ парадоксально спричиняє

незрілість фіброblastів та ендотеліоцитів проміжних і термінальних ворсинок плаценти навіть у плацентах, в яких гістологічним методом встановлено передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти ($p < 0,001$).

Досліджуючи процеси регуляції клітинної маси вільозного трофобласта, ми з'ясували, що ЗДАВ та передчасне дозрівання хоріального дерева як окремо, так і разом призводять до інтенсифікації проліферативних процесів у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($p < 0,001$). У комплексі ЗДАВ та передчасне дозрівання хоріального дерева призводять до зниження оптичної густини імуногістохімічного забарвлення протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок. Вах-залежний апоптоз в трофобласті хоріальних ворсинок плаценті зростає як при ЗДАВ, так і при передчасному дозріванні хоріальних ворсинок плаценти, причому при їхньому поєднанні цей процес є максимально вираженим ($p < 0,001$).

Ключові слова: передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти, залізодефіцитна анемія вагітних, плацентарна недостатність.

SUMMARY

Garvasiuk O.V. Pathological anatomy of premature maturation of the placenta with iron deficiency anemia in pregnancy. Qualifying scientific work as a manuscript.

Thesis to obatine the degree of Candidate of Medical Sciences on specialty 14.03.02 «Pathological Anatomy» (222 «Medicine»). – Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, 2020; Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, the Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2020.

The thesis deals with investigation of pathologic anatomy of placental preterm maturation in women with iron deficiency anemia in pregnancy (IDAP).

Objective of the work was to improve morphological diagnostics of preterm maturation of the placental choroid tree with iron deficiency anemia of pregnancy

during two terms of gestation – 29-32 and 33-36 weeks on the basis of assessment of quantitative values of morphological, histochemical and immune-histochemical signs.

The tasks of the study were to determine peculiarities of the placental choroid tree with IDAP in comparison with physiological pregnancy in the terms of gestation 29-32 and 33-36 weeks by means of morphometric method; to clarify the state of 11-beta-hydroxysteroid-dehydrogenase enzyme production in case of preterm maturation of the placental choroid tree associated with IDAP as a possible factor of preterm labor; to assess the level of placental lactogen, chorionic gonadotropin and placental alkali phosphatase production by the trophoblast of the choroid villi, and activity of this enzyme according to immune-histochemical examination in case of preterm maturation of the placental choroid tree associated with IDAP in the term of gestation 29-32 and 33-36 weeks; to determine expression levels of vimentin in the cytoplasm of fibroblasts and endotheliocytes of the placental villi with iron deficiency anemia associated with preterm maturation of the placental choroid tree; to determine peculiarities of the processes of restricted proteolysis and protein oxidation modification in the trophoblast cytoplasm of the placental choroid villi by means of histochemical method in case of associated preterm maturation of the choroid tree and IDAP; to determine peculiarities of proliferation processes and apoptosis in certain cells of the placental choroid villi with IDAP and preterm maturation of the placental choroid tree.

To achieve the purpose 182 placentae were examined and record charts of women after birth were analyzed. The following groups of investigation were formed: 18 placentae with preterm maturation of the choroid tree and underlying IDAP in 29-32 weeks of gestation (the main group 1); 19 placentae with preterm maturation of the choroid tree and without anemia during labor in 29-32 weeks of gestation (comparison group 1A); 20 placentae with the choroid tree corresponding to the term of gestation with underlying IDAP in 29-32 weeks of gestation (comparison group 1B); 21 placentae with the choroid tree structure corresponding to the term of gestation and without anemia in 29-32 weeks of gestation (comparison group 1C); 20 placentae with preterm maturation of the choroid tree with underlying IDAP in 33-36

weeks of gestation (the main group 2); 22 placentae with preterm maturation of the choroid tree without anemia during labor in 33-36 weeks of gestation (comparison group 2A); 20 placentae with the choroid tree structure corresponding to the term of gestation with underlying IDAP in 33-36 weeks of gestation (comparison group 2B); 21 placentae with the choroid tree structure corresponding to the term of gestation without anemia in 33-36 weeks of gestation (comparison group 2C); 21 placenta with physiological labor (control group).

The following methods of investigation were used: histological, histochemical, immune-histochemical, organometric, morphometric, statistical.

The following signs were found to be peculiarities of the choroid tree preterm maturation with IDAP in the term of 29-32 weeks of gestation on the basis of histological specimens stained with hematoxylin and eosin: on the whole, morphometric parameters of the choroid tree do not reach the level of physiological pregnancy. Maturation degree of the choroid villi is less than that of preterm maturation of the choroid tree without anemia, which is manifested in the less total percentage of terminal and terminal «specialized» villi but greater percentage of intermediate immature villi. Peculiarities of the choroid tree preterm maturation with iron deficiency anemia in the term of gestation 33-36 weeks are the following: on the whole, morphometric parameters of the choroid tree similar to that of the term 29-32 weeks do not reach the level of physiological pregnancy, though in pregnant women without anemia – they do reach it; maturation degree of the choroid villi is less than that of preterm maturation of the choroid tree without anemia, which is manifested in a decreased percentage of terminal «specialized» villi, distribution of percentage between the villi to the side of immature ones, increased percentage of trophoblastic and villous processes.

In the course of conducting the study the method with monoclonal antibodies produced by DakoCytomation (Denmark-USA) was applied against a number of antigens, such as placental lactogen, chorionic gonadotropin, placental alkali phosphatase, 11-beta-hydroxysteroid-dehydrogenase enzyme, pro-apoptotic protein Bax; pro-apoptotic protein Bcl-2; proliferating nuclear antigen Ki-67; vimentin. In the

above immune-histochemical reactions the polymeric system of antibody visualization LSAB2 (labeled streptavidin-biotin) was applied (peroxidase mark + diaminobenzidine) produced by DakoCytomation (Denmark-USA).

Synthetic placental function under conditions of premature maturation and IDAP was assessed by means of immune-histochemical method. Particularly, immune-histochemical concentration of the placental lactogen in the trophoblast of the choroid villi with underlying preterm maturation of the choroid tree is paradoxically low ($p_{1A} < 0,001$; $p_{1B} < 0,001$, $p_{2A} = 0,003$, $p_{2B} = 0,002$). It is characterized by the values close to the normal maturation of the choroid tree during preterm labor. Though, during similar terms of gestation and iron deficiency anemia in pregnancy the concentration of placental lactogen in the trophoblast of the choroid villi is always reduced in comparison with pregnant women without anemia, even irrespective of the degree of morphological maturation of the placental choroid tree.

Immune-histochemical concentration of chorionic gonadotropin in the trophoblast of the choroid villi against the ground of preterm maturation of the choroid tree for both investigated terms of gestation was high ($p_{1A} < 0,001$, $p_{1B} < 0,001$, $p_{2A} = 0,003$, $p_{2B} < 0,001$). In groups with IDAP immune-histochemical concentration of chorionic gonadotropin in the trophoblast of the choroid villi was lower than that without anemia irrespective of preterm maturation of the choroid tree available ($p_{1A} < 0,001$).

Both immune-histochemical concentration of placental alkali phosphatase and its activity, determined by means of azocoupling method, were found to be considerably lower during preterm labor irrespective of the degree of the choroid tree maturation and blood condition than that of the physiological pregnancy ($p < 0,001$). As to the concentration of placental alkali phosphatase, similar regularity for both investigated terms of gestation was determined. Particularly, the concentration of the placental alkali phosphatase is always lower than that of anemia in pregnancy compared with the investigated terms without anemia ($p < 0,001$). And the fact of preterm maturation of the choroid tree is not of a considerable value. As to the activity of the placental alkali phosphatase in the trophoblast of the choroid villi,

mean values at different terms of gestation differ. For example, in the term of gestation 33-36 weeks the regularities of changes in the activity of placental alkali phosphatase correspond with the regularities of its immune-histochemical concentration, that is, the enzyme activity in case of anemia in pregnancy decreases. Though, in the term of gestation 29-32 weeks activity of the placental alkali phosphatase in the trophoblast of the choroid villi does not depend on the blood condition of a pregnant woman.

The results of immune-histochemical detection of 11-beta-hydroxysteroid-dehydrogenase enzyme in syncytiotrophoblast of the placental choroid villi were analyzed. Immune-histochemical concentration of 11-beta-hydroxysteroid-dehydrogenase enzyme with preterm maturation of the choroid tree without anemia during both terms of gestation was found to be higher than the concentration of the enzyme during physiological pregnancy ($p < 0,001$). Immune-histochemical concentration of 11-beta-hydroxysteroid-dehydrogenase enzyme with preterm labor and iron deficiency anemia for both investigated terms of gestation is close to the concentration during physiological pregnancy. In the groups with iron deficiency anemia the indices of immune-histochemical concentration of 11-beta-hydroxysteroid-dehydrogenase enzyme is always lower than that without anemia ($p_{1A} = 0,005$, $p_{2A} = 0,007$).

The level of restricted proteolysis and protein oxidation modification in the trophoblast cytoplasm of the placental choroid villi was analyzed. With physiological pregnancy the level of restricted proteolysis and protein oxidation modification in the trophoblast cytoplasm of the placental choroid villi was found to be on an average lower than that during preterm labor irrespective of the level of morphological maturation of the choroid tree and iron deficiency anemia available ($p < 0,001$).

The highest level of restricted proteolysis and protein oxidation modification in the trophoblastic cytoplasm of the placental choroid villi is found in case of preterm maturation of the choroid tree associated with iron deficiency anemia ($p < 0,001$). The above regularity is peculiar for both investigated terms of gestation: 29-32 and 33-36 weeks. The level of restricted proteolysis and protein oxidation modification in the

trophoblast cytoplasm of the placental choroid villi with iron deficiency anemia, when the structure of the choroid tree corresponds to the term of gestation, is on an average higher than that of the groups of the investigation when anemia is not found ($p<0,001$). The indicated regularity is peculiar for both investigated terms of gestation: 29-32 and 33-36 weeks.

Estimating degree of vimentin expression in the cytoplasm of trophoblasts and endotheliocytes of the intermediate and terminal placental villi, we have determined that detection of optical density of vimentin immune-histochemical staining in the cytoplasm of trophoblasts and endotheliocytes of the intermediate and terminal placental villi can serve as a criterion of maturation of the placental choroid tree maturation. Estimating IDAP effect on the degree of vimentin expression in the cytoplasm of trophoblasts and endotheliocytes of the intermediate and terminal placental villi we have determined that iron deficiency anemia paradoxically promotes immaturity of fibroblasts and endotheliocytes of the intermediate and terminal placental villi even in those placentae where preterm maturation of the choroid tree was determined by means of histological method ($p<0,001$).

Investigating regulation processes of the villous trophoblast cellular mass we have determined that IDAP and preterm maturation of the choroid tree both separately and in association result in intensification of proliferation processes in the trophoblast of the placental choroid villi ($p<0,001$). Association of iron deficiency anemia in pregnancy and preterm maturation of the choroid tree result in decreased concentration of the anti-apoptotic protein Bcl-2 in the trophoblast cytoplasm of the choroid villi. Bax-dependent apoptosis in the trophoblast of the placental choroid villi increases both in case of iron deficiency anemia and preterm maturation of the placental choroid villi, and in case of their association this process is maximally pronounced ($p<0,001$).

Key words: preterm maturation of the placental choroid tree, iron deficiency anemia in pregnancy, placental insufficiency.

Список публікацій здобувача за темою дисертації:

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Морфометричні параметри передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у гестаційному аспекті. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2015;5(2):81-5.
2. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС, Тащук КГ. Імуногістохімічна концентрація плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасному дозріванні хоріального дерева. Буковинський медичний вісник. 2017;21(1):34-8.
3. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Плацентарна лужна фосфатаза в трофобласті плаценти вагітних із залізодефіцитною анемією за умов передчасного дозрівання хоріального дерева. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2017;16(1):11-6.
4. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Імуногістохімічна кількісна оцінка 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти на фоні залізодефіцитної анемії вагітних. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина 2017;7(2):56-60.
5. Garvasiuk O, Davydenko I. Quantitative assessment of the results of vimentin immunohistochemical examination in fibroblasts and endotheliocytes of the placental villi in the aspect of preterm maturation of the chorionic tree and iron deficiency anemia of gravidas. Georgian Medical News. 2017;273:95-9.
6. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Гістохімічні особливості обмеженого протеолізу та окиснювальної модифікації білків у трофобласті плаценти при поєднанні передчасного дозрівання хоріального дерева та залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(4):24-9.
7. Гарвасюк ОВ. Імуногістохімічне дослідження процесів регуляції клітинної маси вільозного трофобласта при залізодефіцитній анемії вагітних та

передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти. Буковинський медичний вісник. 2018;22(3):8-13.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Нові сучасні підходи щодо мікроскопічної діагностики окремих типів ушкоджень поверхні трофобластахоріальних ворсинок плаценти. В: Нечаїв С, редактор. Матеріали XV Конгресу СФУЛТ; 2014 Жов 16-18; Чернівці. Українські медичні вісті. 2014;11(1-4):468.

9. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази при передчасному дозріванні хоріального дерева у вагітних із анемією. В: Матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини; 2014 Лис 26-17; Чернівці. Чернівці; 2014.

10. Гарвасюк ОВ. Морфологічні особливості хоріального дерева при його передчасному дозріванні у жінок із залізодефіцитною анемією у термін гестації 33-36 тижні. Хист. 2015;17:257.

11. Гресько АС, Гарвасюк ОВ. Розподіл протеїнів ВАН у клітинах Гофбауера плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних. Хист. 2016;18:355.

12. Гарвасюк ОВ, Паранюк ЮД. Дослідження хоріонічного гонадотропіну у трофобласті плаценти у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасному дозріванні хоріального дерева у термін гестації 33-36 тижнів. Хист. 2017;19:305.

13. Гарвасюк ОВ. Активність та імуногістохімічна концентрація плацентарної лужної фосфатази в трофобласті плаценти з передчасним дозріванням у вагітних на фоні залізодефіцитної анемії у термін гестації 33-36 тижні. В: Матеріали XXI Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих учених; 2017 Кві 24-26; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2017, с. 323.

14. Гарвасюк ОВ. Дослідження 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті плаценти з передчасним дозріванням хоріального дерева у

вагітних із залізодефіцитною анемією вагітних в термін гестації 29-32 тижнів вагітності. В: Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(3):27.

15. Petrochenkov H, Garvasiuk O. Immunohistochemical concentration of human chorionic gonadotropin in the placenta's trophoblast cell with early maturation of placental villous tree considering the iron-deficiency anemia of pregnant. В.: Український науково-медичний молодіжний журнал; 2017, с. 33.

16. Гарвасюк ОВ, Петроченков ГП, Мазур ЯІ. Вплив залізодефіцитної анемії вагітних на кількісні параметри віментину в ендотеліоцитах хоріальних ворсинок плаценти в гестаційному аспекті. В: «BIMCOJornal» - Збірник матеріалів Буковинського міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих учених, BIMCO 2018; с. 275.

17. Гарвасюк ОВ. Імуногістохімічне дослідження 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті плаценти в поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних у термін 33-36 тижні гестації. В: Матеріали XXII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих учених; 2018 Кві 23-25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 323.

18. Гарвасюк ОВ. Імуногістохімічне дослідження протиапоптотичного протеїну Bcl-2 при залізодефіцитній анемії вагітних та передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти у 29-32 тижні гестації. В: «BIMCOJornal» - Збірник матеріалів Буковинського міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих учених, BIMCO 2019; с. 285.

19. Гарвасюк ОВ. Дослідження окиснювальної модифікації білків в трофобласті плаценти із передчасним дозріванням хоріальних ворсинок в поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних в термін гестації 33-36 тижнів вагітності. В: Матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині; 2019 Жов 24-5; Чернівці. Чернівці; 2019, с. 43-4.

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

20. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Гарвасюк ОВ. Спосіб дослідження

окислювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я (Реєстр. № 278/4/17). Київ, 2018, с. 256-7.

21. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Мироник ОВ, Лазарук ОВ, Гарвасюк ОВ, Попович АІ, та ін., винахідники; Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», патентовласник. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Патент України № 115329. 2017 Кві 10.

22. Гарвасюк ОВ. Застосування предметних скелець з електричним принципом клітинної адгезії для вдосконалення способу діагностики індексу окиснюваної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Раціоналізаторська пропозиція №9/18 від 09.01.2018р.

23. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Спосіб для виконання різних імуногістохімічних реакцій на одному предметному скельці. Раціоналізаторська пропозиція №8/18 від 09.01.2018р.

24. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Використання термопоту для демаскування антигенів при виконанні імуногістохімічних реакцій. Раціоналізаторська пропозиція №7/18 від 09.01.2018р.

25. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Застосування хімічної фіксації препаратів-відбитків у парах параформальдегіду для вдосконалення способу діагностики індексу окиснюваної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Раціоналізаторська пропозиція №6/18 від 09.01.2018р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	21
ВСТУП.....	22
РОЗДІЛ 1 ПАТОЛОГІЧНА АНАТОМІЯ ПЕРЕДЧАСНОГО ДОЗРІВАННЯ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНІЙ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	
1.1 Сучасні аспекти плацентарної недостатності.....	30
1.2 Уявлення про вплив залізодефіцитної анемії вагітних на формування плацентарної недостатності.....	39
1.3 Проблема передчасних пологів та передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти.....	46
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	61
РОЗДІЛ 3 ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРЕДЧАСНОГО ДОЗРІВАННЯ ВОРСИНЧАСТОГО ХОРІОНА У ВАГІТНИХ БЕЗ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ З ПОЛОГАМИ В ТЕРМІНІ ГЕСТАЦІЇ 29-32 ТА 33-36 ТИЖНІВ.....	70
3.1 Морфологічна та морфометрична характеристика хоріального дерева.....	71
3.2 Імуногістохімічне дослідження плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок.....	76
3.3 Гістохімічне та імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази.....	80
3.4 Імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета- гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті.....	83
3.5 Дослідження експресії віментину у структурах ворсинок.....	85
3.6 Дослідження обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти.....	88

3.7 Дослідження окислювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти	91
3.8 Дослідження регуляції проліферативної активності та відмирання клітин трофобласта.....	92
РОЗДІЛ 4 ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРЕДЧАСНОГО ДОЗРІВАННЯ ВОРСИНЧАСТОГО ХОРІОНА У ВАГІТНИХ З ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЮ АНЕМІЄЮ З ПОЛОГАМИ В ТЕРМІНІ ГЕСТАЦІЇ 29-32 ТА 33-36 ТИЖНІВ.....	101
4.1 Морфологічна та морфометрична характеристика хоріального дерева.....	102
4.2 Імуногістохімічне дослідження плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок.....	108
4.3 Гістохімічне та імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази.....	112
4.4 Імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета-гидроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті	116
4.5 Дослідження експресії віментину у структурах ворсинок.....	118
4.6 Дослідження обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти.....	122
4.7 Дослідження окислювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти.....	125
4.8 Дослідження регуляції проліферативної активності та відмирання клітин трофобласта	128
РОЗДІЛ 5 ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХОРІАЛЬНОГО ДЕРЕВА ПЛАЦЕНТИ У ВАГІТНИХ З ФІЗІОЛОГІЧНОЮ ВАГІТНІСТЮ ТА З НОРМАЛЬНИМИ ТЕМПАМИ РОЗВИТКУ ХОРІОНУ БЕЗ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ПРИ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГАХ У ТЕРМІНІ ГЕСТАЦІЇ 29-32 ТА 33-36 ТИЖНІВ.....	138

5.1. Морфологічна та морфометрична характеристика хоріального дерева.....	138
5.2 Імуногістохімічне дослідження плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок.....	147
5.3 Гістохімічне та імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази.....	151
5.4 Імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті.....	155
5.5 Дослідження експресії віментину у структурах ворсинок.....	157
5.6 Дослідження обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти.....	161
5.7 Дослідження окислювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти.....	163
5.8 Дослідження регуляції проліферативної активності та відмирання клітин трофобласта	165
РОЗДІЛ 6 ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХОРІАЛЬНОГО ДЕРЕВА ПЛАЦЕНТИ З НОРМАЛЬНИМИ ТЕМПАМИ РОЗВИТКУ ХОРІОНУ У ПОЄДНАННІ ЗІ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЮ АНЕМІЄЮ ВАГІТНИХ ІЗ ПОЛОГАМИ В ТЕРМІНІ ГЕСТАЦІЇ У 29-32 ТА 33-36 ТИЖНІВ.....	176
6.1 Морфологічна та морфометрична характеристика хоріального дерева.....	177
6.2 Імуногістохімічне дослідження плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок.....	181
6.3 Гістохімічне та імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази.....	184
6.4 Імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті.....	187
6.5 Дослідження експресії віментину у структурах ворсинок.....	188

6.6 Дослідження обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти.....	191
6.7 Дослідження окислювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти.....	193
6.8 Дослідження регуляції проліферативної активності та відмирання клітин трофобласта	195
РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	204
ВИСНОВКИ.....	221
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	224
ДОДАТОК А Патент на корисну модель.....	254
ДОДАТОК Б Акти впроваджень.....	259
ДОДАТОК В Реєстр галузевих нововведень	266
ДОДАТОК Г Раціоналізаторські пропозиції.....	271
ДОДАТОК Д Відомості про апробацію результатів дисертації.....	275
ДОДАТОК Е Наукові праці, опубліковані за темою дисертації.....	276
ДОДАТОК Ж Таблиця скорегованих нормативів хоріальних ворсинок	281

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ПН	—	плацентарна недостатність
ХПН	—	хронічна плацентарна недостатність
ХВ	—	хоріальна ворсинка
СТ	—	синцитіотрофобласт (симпластотрофобласт)
ЦТ	—	цитотрофобласт
ЗВУР	—	затримка внутрішньоутробного розвитку
ЗДАВ	—	залізодефіцитна анемія вагітних
ОМБ	—	окиснювальна модифікація білків
МПД	—	матково-плацентарна ділянка
11 β -HSD-1	—	11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази ізоформа 1
11 β -HSD-2	—	11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази ізоформа 2
Bax	—	Bcl-2 – асоційований X протеїн
Bcl-2	—	онкопротеїн B-cell Lymphoma 2
R/B	—	Red/Blue коефіцієнт – відношення «кислих» до «основних» білків
в. од. опт. густини	—	відносні одиниці оптичної густини

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Охорона материнства та дитинства є важливою складовою в системі охорони здоров'я України [65]. Аналіз стану репродуктивного здоров'я в Україні та перспективи його покращення були всебічно представлені в Концепції державної програми «Репродуктивне здоров'я нації на 2006-2015 рр.» [75]. У вказаному документі були зазначені основні проблемні питання репродуктивного здоров'я, зокрема високий рівень ускладнень вагітності та пологів. У цьому ж аспекті був розроблений Національний Проект «Нове життя. Нова якість охорони материнства та дитинства», де були поставлені нові завдання щодо наукового супроводу вирішення проблеми покращення репродуктивного здоров'я в Україні. Одним із головних об'єктів уваги для наукових розробок в цьому контексті є плацентарна недостатність (ПН) [2, 63, 137, 259], і тут одним із пріоритетних завдань сучасної медицини є покращення діагностики плацентарної недостатності [2], у тому числі з урахуванням порушень дозрівання хоріального дерева плаценти.

Залізодефіцитна анемія вагітних (ЗДАВ) є поширеною патологією і трапляється з частотою 28-84% [118, 208, 250]. Ця патологія крові виникає під час вагітності й характеризується низкою змін у крові [1, 185, 258], які здатні негативно впливати на різні органи та системи. Зокрема, відомо, що ЗДАВ порушує дозрівання хоріального дерева плаценти, при цьому відзначається гальмування розвитку хоріальних ворсинок плаценти, що проявляється низьким відсотком зрілих варіантів хоріальних ворсинок (проміжних зрілих, термінальних, термінальних «спеціалізованих», стовбурових «пізніх» ворсинок) та зниженням вмісту в трофобласті ворсинок специфічних плацентарних білків – плацентарного лактогену, плацентарної лужної фосфатази, трофобластичного бета-глікопротеїну тощо [46, 126]. Слід зауважити, що порушення дозрівання хоріального дерева є одним із головних морфологічних чинників розвитку хронічної недостатності посліду [3, 44, 183], отже, вивчення процесів

порушення дозрівання хоріального дерева плаценти є актуальною проблемою медицини.

Водночас, у сучасній практиці патологоанатомів трапляються спостереження, коли в жінок зі ЗДАВ реєструється не гальмування розвитку хоріальних ворсинок, а навпаки – передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти [57, 131]. Передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти діагностується за збільшенням відсотка зрілих форм хоріальних ворсинок у порівнянні з гестаційною нормою й відзначається при передчасних пологах [53]. Варто вказати на те, що передчасне дозрівання хоріального дерева реєструється при передчасних пологах доволі часто, зокрема, у терміні вагітності 29-32 тижні – із частотою близько 50%, а у терміні 33-36 тижнів із частотою – 33% [41, 143]. Передчасне дозрівання хоріального дерева, так само як і гальмування розвитку хоріального дерева, може служити морфологічною основою для виникнення хронічної недостатності посліду, оскільки існує імовірність виникнення невідповідності між потребами плода та можливістю плаценти забезпечити ці потреби [38, 138]. Варто відзначити, що вплив ЗДАВ на морфологічну картину передчасного дозрівання плаценти не вивчений, отже, це ускладнює патоморфологічну діагностику нюансів хронічної плацентарної недостатності, які можуть виникати при поєднанні вказаних патологій. Таким чином, залишається невирішеним актуальне завдання вдосконалення діагностики передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» «Морфологічні аспекти патології плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних» (№ держреєстрації 0114U004125, термін виконання 2014-2018 рр.). Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (протокол №9 від 29 травня

2014 року) та Проблемною комісією МОЗ та НАМН України «Патологічна анатомія. Судова медицина» (витяг з протоколу №34 від 8 грудня 2014 р.).

Мета роботи: удосконалення патологоанатомічної діагностики передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у два терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів на основі оцінки кількісних значень морфологічних, гістохімічних та імуногістохімічних ознак.

Завдання дослідження:

1. Встановити гістологічні особливості хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у порівнянні з фізіологічною вагітністю в терміні гестації 29-32 та 33-36 тижнів.

2. З'ясувати роль ключового фактора передчасних пологів – ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти в поєднанні з залізодефіцитною анемією за допомогою імуногістохімічного методу.

3. Оцінити рівень продукції трофобластом хоріальних ворсинок плацентарного лактогену, хоріонічного гонадотропіну та плацентарної лужної фосфатази та особливості їх розподілу згідно з імуногістохімічним дослідженням, а також активність плацентарної лужної фосфатази гістохімічним методом при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних у терміні 29-32 та 33-36 тижнів вагітності.

4. Визначити рівні експресії віментину в цитоплазмі фібробластів та ендотеліоцитів ворсинок плаценти при залізодефіцитній анемії в поєднанні з передчасним дозріванням хоріального дерева.

5. Встановити особливості процесів обмеженого протеолізу та окиснювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти гістохімічним методом при поєднанні передчасного дозрівання хоріального дерева та залізодефіцитної анемії вагітних.

6. Встановити особливості проліферативних процесів та апоптозу в клітинах хоріальних ворсинок плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних та передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти.

Об'єкт дослідження: передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних.

Предмет дослідження: критерії патологоанатомічної діагностики передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних.

Методи дослідження: макроскопічні, гістологічні, гістохімічні, імуногістохімічні, морфометричні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. На підставі комплексного патологоанатомічного дослідження плаценти вперше визначені морфологічні особливості передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти в жінок із залізодефіцитною анемією вагітних у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів. З'ясовано, що в плацентах, в яких гістологічним методом встановлено передчасне дозрівання хоріального дерева, незважаючи на принциповий факт випередження морфологічного дозрівання хоріальних ворсинок, за низкою параметрів виникає ефект відносного стримування розвитку хоріального дерева плаценти на тлі залізодефіцитної анемії. При цьому в трофобласті хоріальних ворсинок відбувається зниження вмісту гормону плацентарного лактогену, ферменту плацентарної лужної фосфатази зі зниженням активності цього ензиму, що є типовими проявами плацентарної недостатності.

Під час імуногістохімічних дослідженнях уперше доведено, що при передчасному дозріванні хоріального дерева в поєднанні з залізодефіцитною анемією вміст ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (який серед різних активних речовин плаценти відіграє провідну роль в ініціації пологової діяльності) є близьким до фізіологічної вагітності для обох вивчених термінів вагітності (29-32 та 33-36 тижнів). На основі цих даних висунута гіпотеза, що саме це є найбільш вірогідною причиною розвитку передчасних пологів при

передчасному дозріванні хоріального дерева в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних.

На підставі виконаних досліджень уперше висунуто гіпотезу про те, що залізодефіцитна анемія вагітних впливає на процеси дозрівання хоріального дерева через інтенсифікацію вільнорадикальних процесів, які підвищують процеси окиснювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти та процеси обмеженого протеолізу.

Уперше з'ясовано, що залізодефіцитна анемія вагітних та передчасне дозрівання хоріального дерева як окремо, так у поєднанні призводять до інтенсифікації проліферативних процесів у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти. Водночас показано, що при поєднанні залізодефіцитної анемії вагітних з передчасним дозріванням хоріальних ворсинок плаценти в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти зростає Вах-залежний апоптоз.

Завдяки проведеним дослідженням уточнені гестаційні критерії діагностики патології плаценти при передчасному дозріванні хоріального дерева у вагітних із залізодефіцитною анемією для термінів гестації 29-32, 33-36 тижнів. Критерії полягають у замінах існуючих нормативів показників для окремих типів ворсинок відповідно до певного терміну гестації.

Практичне значення отриманих результатів.

За виконаними науковими дослідженнями отримано деклараційний патент України на корисну модель «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах» (додаток А).

Результати досліджень впроваджено у практичну роботу Обласної комунальної медичної установи «Патологоанатомічне бюро» м. Чернівців (2018р.), КЗ ЛОР «Львівське патологоанатомічне бюро» (2018р.), Комунальної установи «Чернівецький обласний клінічний онкологічний диспансер» (2018р.), гінекологічного відділення Сторожинецької ЦРЛ Чернівецької області (2018р.). Наукові результати досліджень використовуються (2015-2018 рр.) у процесі викладання студентам навчальних дисциплін патологічної анатомії та патоморфології на кафедрі патологічної анатомії Вищого державного

навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (2018р.), кафедри патоморфології та судової медицини ВДНЗ Івано-Франківського національного медичного університету (2018р.). Усього отримано 7 актів впровадження (додаток Б).

Галузеве нововведення «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах» опубліковано у «Переліку наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадженнь досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я» у співавторстві з Давиденком І.С. та Давиденко О.М. (2018) (додаток В).

Запропоновано такі раціоналізаторські пропозиції: (1) Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Використання термопоту для демаскування антигенів при виконанні імуногістохімічних реакцій. Раціоналізаторська пропозиція №7/18 від 09.01.2018р. (2) Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Спосіб для виконання різних імуногістохімічних реакцій на одному предметному скельці. Раціоналізаторська пропозиція №8/18 від 09.01.2018р. (3) Гарвасюк ОВ. Застосування предметних скелець з електричним принципом клітинної адгезії для вдосконалення способу діагностики індексу окиснюваної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Раціоналізаторська пропозиція №9/18 від 09.01.2018 р. (4) Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Застосування хімічної фіксації препаратів-відбитків у парах параформальдегіду для вдосконалення способу діагностики індексу окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Раціоналізаторська пропозиція №6/18 від 09.01.2018р. (додаток Г).

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною науковою працею, виконаною дисертантом під керівництвом доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри патологічної анатомії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» І.С. Давиденка. Ідею, мету дисертаційної роботи висунуто та сформовано спільно з науковим керівником. Імуногістохімічні дослідження виконані та проаналізовані спільно з науковим

керівником. Забір матеріалу, макро- та мікроскопічні дослідження, статистична обробка матеріалу, аналіз наукової літератури з проблеми цього наукового дослідження проведено автором самостійно. Усі розділи дисертації, теоретичні та практичні висновки написані дисертантом особисто. Виступи на наукових форумах підготовлені та здійснені автором самостійно. У наукових роботах, надрукованих у співавторстві, автору належить фактичний матеріал і участь дисертанта є визначальною. Права співавторів публікацій порушені не були, конфлікти інтересів відсутні. Матеріали цієї роботи не були використані в інших дисертаціях.

Апробація матеріалів роботи. Результати досліджень та основні положення кандидатської наукової роботи доповідалися, обговорювалися і отримали позитивні відгуки на XV Конгресі СФУЛТ (Чернівці, Україна, 2014), на Науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини» (Чернівці, Україна, 2014), на II Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів та молодих учених (Чернівці, Україна, 2015), на III Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів та молодих учених (Чернівці, Україна, 2016), на IV Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих учених (Чернівці, Україна, 2017), на XXI Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих учених (Тернопіль, Україна, 2017), на «Annual Young Medical Scientists Conference 2017 (AYMS Conf 2017)» (Київ, Україна, 2017), на Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції» (Чернівці, Україна, 2017), на V Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих учених (Чернівці, Україна, 2018), на XXII Міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, Україна 2018), на VI Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих учених (Чернівці, Україна, 2019), на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині» (Чернівці, Україна, 2019).

Відомості про апробацію результатів дисертації наведені у додатку Д.

Публікації. За матеріалами дослідження, викладеними в дисертаційній роботі, опубліковано 25 праць, з яких 6 статей у фахових наукових виданнях України рекомендованих МОН України та включених до міжнародних наукометричних баз; одна – в зарубіжному виданні, внесеному в базу даних SCOPUS; 12 робіт – у матеріалах наукових конгресів та конференцій. Отримано один деклараційний патент України на корисну модель, чотири раціоналізаторські пропозиції, здійснене одне нововведення. Перелік усіх публікацій із зазначенням особистої участі автора дисертаційної роботи наведений у додатку Е.

Структура та обсяг дисертації. Робота викладена українською мовою на 281 сторінці машинописного тексту (основний текст роботи становить 167 сторінок) і складається з анотацій українською та англійською мовами, переліку публікацій здобувача, зі вступу, огляду літератури, матеріалу і методів, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Робота ілюстрована 65 рисунками та 59 таблицями. Список літератури містить 265 джерел (131 кирилицею та 134 латиницею).

РОЗДІЛ 1

ПАТОЛОГІЧНА АНАТОМІЯ ПЕРЕДЧАСНОГО ДОЗРІВАННЯ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНІЙ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Сучасні аспекти плацентарної недостатності

Під час вагітності в утробі матері для нормального розвитку плода повинні бути адекватно забезпечені необхідна кількість поживних речовин, вироблення достатньої кількості регуляторів фетального метаболізму – гормонів, специфічних білків, а також виведення продуктів життєдіяльності плода [135]. Усі вказані потреби плода забезпечуються послідом – комплексом взаємозв'язаних структур, до яких відносять хоріальне дерево, матково-плацентарну ділянку (МПД), пуповину, оболонки, навколоплідну рідину. Ембріогенез забезпечується постійною взаємодією між плацентою та ембріоном [234]. При неспроможності посліду виконувати своє призначення зі забезпечення нормального внутрішньоутробного розвитку плода використовують термін «недостатність посліду» [7, 144]. Недостатність посліду можуть зумовити порушення будь-якої його структури (хоріальне дерево, МПД, пуповина, оболонки, навколоплідна рідина). Проте увага науковців прикута до комплексу «хоріальне дерево/МПД», який прийнято називати плацентою [3, 78].

У вагітних жінок з ПН можливі серйозні ускладнення, що впливають на результат пологів [219]. Таким чином, вагітні та породіллі з ПН є групою високого перинатального ризику [8, 181]. В цілому, проблема виникнення ПН досить суперечлива та вимагає стандартизованого підходу [198]. Дослідження плаценти повинно розпочинатися з органометричних показників. При вивченні ПН потрібно звернути увагу на зміни форми, товщини, ваги та питомого об'єму плаценти [246, 247]. Ptacek I. та співатори (2014-2016) у свої роботах зауважують, що треба проводити гістопатологічні дослідження плацент з

метою уніфікації класифікацій патології плаценти з використанням як кількісних показників, так і з якісними показниками [241].

Немає сумніву в тому, що визначення механізмів формування ПН потребує диференційного підходу, а саме з урахуванням терміну гестації та ступеня зрілості хоріального дерева плаценти [45, 52]. Особлива увага повинна приділятися дослідженню морфологічних параметрів хоріального дерева плаценти [232], а також васкулогенезу плаценти [206]. Повинні посилитися й зусилля щодо виявлення ранніх біомаркерів плацентарної дисфункції з використанням інноваційних технологій візуалізації [245].

У 2014 році колектив авторів Гошовська А.В. та Гошовський В.М. вивчили гістологічні критерії зрілості МПД для діагностики передчасного або уповільненого дозрівання плаценти людини в різні терміни вагітності шляхом визначення відповідних діапазонів норми відсотка спіральних артерій матки з повною гестаційною перебудовою та кількості венозних судин на одиницю площі гістологічного зрізу МПД [45].

Маєвський О.Є. (2014) в своїх роботах описує інволютивно-дегенеративні зміни посліду при фізіологічному старінні плаценти та фетоплацентарній недостатності, висунуте дискусійне питання: чи вважати ці зміни ознаками зрілості чи все ж старінням плаценти. Проведені Маєвським О.Є. молекулярно-біологічні дослідження щодо формування та розвитку плаценти людини дозволили вважати недостовірною теорію «старіння» плаценти і стверджувати, що різноманітні морфо-функціональні зміни плаценти в процесі вагітності є не наслідком інволюції, а закономірними компенсаторними реакціями, спрямованими на забезпечення нормального росту й розвитку плода [88].

У своїх роботах Гречко Д.І. (2013) встановив взаємозв'язки між стромально-паренхіматозними характеристиками печінки плодів та зрілістю хоріального дерева при ПН [49]. У літературі також згадується про пряму залежність між рівнем факторів росту плаценти з внутрішньоутробним розвитком плода [150, 207].

Оцінка морфофункціонального стану плаценти є одним з найважливіших критеріїв, який дозволяє з'ясувати роль зазначеної патології в системі мати-плацента-плід щодо прогнозу стану плода [15]. Така характеристика посліду повинна включати оцінку порушень фетоплацентарного кровообігу, проявів компенсаторних процесів у плаценті, імуноморфологічних зсувів, ендокринної функції, а також повноцінності плацентарного бар'єру [14, 93, 175].

А.П. Милованов (1999) у визначенні поняття ПН надав узагальнене формулювання: «ПН – це гострий або хронічний клініко-морфологічний симптомокомплекс, який виникає як результат поєднаної реакції плода та плаценти на різні порушення стану материнського організму» [93]. ПН повинна розглядатись як синдром, зумовлений морфофункціональними змінами, що характеризується неспроможністю плаценти підтримувати адекватний обмін між організмом матері і плода [81, 194]. Згідно зі Г.М. Савельєвою зі співавторами (2006) «ПН – це клінічний синдром, який виникає при патологічному стані материнського організму і може призвести до внутрішньоутробної гіпотрофії в результаті порушення трофічної функції та до внутрішньоутробної гіпоксії плода, зумовленої змінами газообміну у плаценті» [108].

Основні морфологічні ознаки компенсаторно-пристосувальних реакцій при ПН тісно пов'язані з характером її складних і різноманітних функцій. Однією з таких функцій є виконання бар'єру проти токсичних речовин, певних клітин, мікроорганізмів, які можуть ініціювати у плода гормональні реакції з наслідками передчасної пологової діяльності у матері [141, 201]. Забезпечення плода енергетичним ресурсом та основними поживними речовинами реалізується за участі судинних та несудинних транспортних і метаболічних систем провізорних органів [80]. Плацента посідає перше місце в забезпеченні взаємозв'язку між плодом та організмом вагітної жінки. У цьому випадку бар'єрна система плаценти, що характеризується селективністю, відіграє важливу роль [214].

ПН може проявитись як порушенням фіксації плода в матці (невиношування вагітності, передчасні пологи) [84, 260] так і різноманітними морфофункціональними розладами. Наприклад, у плода можуть розвинутих як затримка внутрішньоутробного розвитку (ЗВУР) [148], гіпотрофія, внутрішньоутробна гіпоксія [215, 230] так і неспроможність пупкової артерії [242]. ПН може бути основою виникнення неонатальної патології та перинатальної смертності [97, 240]. Отже, зазначене вище є результативними критеріями хронічної плацентарної недостатності (ХПН) [115].

Тезиков Ю.В. (2012) та Мельник Ю.М. (2015) незалежно один від одного у своїх дослідженнях дійшли висновку, що прогнозування та рання діагностика важких форм ПН повинна здійснюватися з застосуванням моніторингу вмісту в крові маркерів ендотеліальної дисфункції, плацентарних білків материнської оболонки плаценти, апоптозу і клітинної проліферації [91, 115]. Анчева І.А. (2014) проводила імуногістохімічні дослідження особливостей васкулярно-ендотеліального фактора росту (VEGF) в плаценті у жінок з дисфункцією плаценти та ЗДАВ [5].

Звичайно, передчасне переривання вагітності та порушення морфофункціонального стану плода можуть бути зумовлені причинами, прямо не пов'язаними з ПН (аномалії розвитку, імунологічні порушення, травми матки, психо-емоційні розлади, тяжкі отруєння, генетичні вади плода, вплив інфекційних агентів або токсинів, які проникли через плацентарний бар'єр тощо) [134, 165, 190, 191]. Окуп М.Л. та співавтори у 2011 р. провели ряд досліджень щодо передчасних пологів внаслідок недосипання вагітної [237]. Лише зіставлення клінічних даних з морфологічними дослідженнями дозволяє визначити механізми формування ПН [132]. Необхідно також враховувати, що виконання плацентою її функцій (фіксації плода в матці та його метаболічного забезпечення) здійснюється по-різному залежно від гестаційного терміну [53]. Саме тому хоріальне дерево плаценти повинно бути обстежене в аспекті її гестаційного віку [235].

З огляду на викладене, у класифікації ПН варто виділяти гестаційні терміни її розвитку. Таким чином, виокремлюють ПН ембріонального (I триместр), раннього фетального (II триместр), пізнього фетального (III триместр), інтранатального періодів [93]. Раніше до 16 тижня вагітності виділяли первинну ПН та вторинну ПН [93]. Вважалося, що первинна ПН формується в період імплантації, раннього ембріогенезу і плацентації під впливом насамперед генетичних, ендокринних та інфекційних факторів на гамети батьків, зиготу, бластоцисту, незрілу плаценту, на ембріон та ранній плід [89]. Первинна ПН реалізується у вигляді анатомічних аномалій посліду, а також дефектів васкуляризації та порушення дозрівання хоріону, переривання вагітності й загибелі ембріона протягом I триместру [261]. Вторинна ПН розвивається, коли плацента вже сформована як повноцінний орган. Згідно з цією класифікацією виділяють два різновиди ПН: гостра (порушення матково-плацентарного кровообігу) та хронічна. Хронічна ПН частіше виникає при пізніх гестозах, вогнищах латентної інфекції, серцево-судинних і ниркових захворюваннях матері [100]. Під час дії патогенних факторів на незрілу плаценту недосконалість компенсаторних реакцій зумовлює розвиток абсолютної ПН та внутрішньоутробну загибель плода в II половині вагітності [93]. ПН при перериванні вагітності у III триместрі з морфологічними проявами передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти треба аналізувати як хронічну.

Первинна плацентарна дисфункція пов'язана зі змінами в будові, розташування, прикріплення плаценти і дозріванні ворсин хоріона. Існує безліч причин, здатних призвести до виникнення первинної ПН. До них, головним чином, належать генетичні чинники, ферментативні порушення, що заважають нормальному розвитку плодового яйця [125].

У розвитку первинної ПД беруть участь генетичні, ендокринні, інфекційні фактори, що впливають на формування плаценти в період імплантації, в зв'язку з цим первинна ПН пов'язана зі змінами будови, прикріплення, розташування, дефектами васкуляризації і порушенням

дозрівання хоріона. Первинна ПД сприяє розвитку вроджених вад плода при вагітності. Клінічно вона проявляється картиною мимовільного аборту в ранні терміни гестації або загрозою переривання вагітності в більш пізні терміни [129].

ПН діагностується у всіх випадках наявності ознак гіпотрофії та інших морфофункціональних порушень плода [70, 90]. З урахуванням стану плода Глуховцем Б.І та співав. (2001-2002) була розроблена класифікація ХПН з виділенням трьох її форм:

- 1) компенсована – дефіцит маси плода 0-10%;
- 2) субкомпенсована – дефіцит маси плода 11-30%;
- 3) декомпенсована – дефіцит маси плода перевищує 30% [41].

Особливу увагу заслуговує класифікація ПН, яку розробив колектив авторів Цинзерлинг В.А. та Мельникова В.Ф. (2002), з виділенням латентної, маніфестної та хронічної ПН. Кожна форма може бути трьох ступенів: мінімального, середнього та виразного [122].

У 2017 році з'явилась публікація про так звану гіпотезу Баркера (Barker hypothesis), базовану на тому, що хвороби дорослих (гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, ожиріння, пухлинний процес), можливо, пов'язані з патологічним розвитком хоріального дерева плаценти [213].

Для патологоанатомів та акушерів-гінекологів важливим є не тільки встановлення основних критеріїв синдрому ПН, але також і визначення конкретних морфологічних ознак ПН [120]. Встановлення конкретних морфологічних ознак ПН допоможе роз'яснити аспекти формування синдрому ПН при різноманітній патології матері чи плода. Встановлення конкретних морфологічних ознак ПН є принципово важливим елементом для подальшої розробки методів профілактики та лікування ПН [117, 256].

У характеристиці морфологічного стану плаценти протягом усієї вагітності надзвичайно важливою є відповідність будови хоріального дерева плаценти терміну гестації [251]. Необхідно оцінити гестаційну відповідність хоріального дерева плаценти до нормативних критеріїв терміну гестації [52],

морфологію хоріальних ворсинок плаценти [220], перебудову стінок спіральних артерій, стан фібробластів та ендотеліоцитів, а також імуногістохімічні особливості [195]. При передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти особливо перспективним об'єктом дослідження є фібробласти та ендотеліоцити, адже саме вони можуть слугувати критерієм зрілості хоріального дерева плаценти [56].

De Raere M.E. та співавтори (2015) дійшли висновку, що залежно від гестаційного віку варіюють і особливості плацентарної маси [176, 252]. Достатня маса плаценти має значення для повноцінного виконання нею своїх принципових функцій. В цьому аспекті треба враховувати масу функціонуючих клітин. Загалом органна маса, як і об'єм, є величиною інтегральною, тобто орієнтовною [202]. Органна маса, як і об'єм, включають в себе екстрацелюлярний матрикс, фібриноід, плодову кров, кальцифікати, залишки материнської крові, інфаркти, кісти тощо [143]. Очевидно, що значущість цих об'єктів у функціонуючому аспекті нерівнозначна, особливо при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти.

Клітинна маса плацентарної тканини повинна бути не лише у достатній кількості, але й адекватно виконувати свою специфічну функцію, наприклад, формування СТ місцевої імунної толерантності через систему HLA [155], продукцію СТ та ЦТ специфічних молекул, наприклад гормонів (людський плацентарний лактоген, хоріонічний гонадотропін), специфічних білків вагітності (плацентарна лужна фосфатаза) [39, 47], перетворення СТ кортизолу у неактивний кортизон за допомогою 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11 β -HSD-2), що регулює окситоциново-простогландиновий механізм пологів [216], формування фібробластами екстрацелюлярного матриксу, активна регуляція ендотеліоцитами розмірів судинного русла плода.

Враховуючи можливість переважання недостатності конкретних структур плаценти, можна використати класифікацію ХПН для II та III триместру вагітності, яку розробив науковець А.П. Милованов [93]. Згідно з цією

класифікацією розрізняють фетоплацентарну, ізольовану плацентарну, матково-плацентарну форми ХПН.

Виділяють наступні градації ХПН за ступенем важкості:

I ступінь – початкові структурні зміни плаценти, без органометричних зсувів: маса плода нормальна, об'єм макропатології плаценти не перевищує 5% материнської поверхні, високий рівень компенсаторних реакцій.

II ступінь – виражена тенденція до зниження маси плаценти та плода, макропатологія в межах 7-15% материнської поверхні, варіанти незрілості типу проміжних диференційованих ворсин або дисоційованого розвитку котиледонів, середній, вогнищевий рівень компенсаторних реакцій.

III ступінь – виражена гіпоплазія плаценти, гіпотрофія плода, загибель плода чи новонародженого, макропатологія плаценти більше 16-20% материнської поверхні, ранні варіанти патологічної незрілості або переважання хаотичних, склерозованих ворсин, слабкість чи відсутність компенсаторних реакцій [93].

Відомо, що гіпоксія є одним із вагомих чинників ПН. Механізм ПН полягає в енергетичному дефіциті, який зумовлений зниженням аеробних процесів та утворенням підвищеної кількості вільних кисневих радикалів у високих концентраціях [68]. Енергетичний дефіцит погіршує пластичні процеси, викликає дисфункцію мітохондрій, і як наслідок, – атрофію та загибель клітин, пригнічує проліферативну спроможність клітин [156].

Цікаво, що фізіологічна вагітність також супроводжується оксидативним стресом і активацією процесів вільнорадикального окиснення біополімерів [172]. Проте як при гострій, так і при хронічній гіпоксії ця активація є значно інтенсивнішою [86]. Зростання кількості вільних радикалів у материнській крові інтервільозних просторів плаценти може зумовити безпосереднє ушкодження плазматичної мембрани СТ і насамперед проявляється пошкодженням поверхні мікроворсинок, яка може бути досліджена імуногістохімічним методом [116]. При гіпоксії можлива і внутрішньоклітинна активація вільнорадикальних процесів [199].

Останнім часом увага приділяється вивченню окиснювальної модифікації білків (ОМБ) під впливом не тільки вільних радикалів кисню, але й під дією інших сполук, наприклад, таких як пероксинітри [4, 67]. Важливо врахувати, що модифіковані білки шляхом окиснення значно легше піддаються протеолізу [50]. Це може мати визначне значення і при каспазному протеолізі під час апоптичних процесів, і при лізосомальному розкладі білкових компонентів мембран [58]. Вважається, що підвищення у 2-5 разів сумарного рівня активних форм кисню запускає процеси апоптозу, а в 10-100 разів – некрозу [113]. Враховуючи результати дослідження науковців, Семеняк А.В. та співавтори (2016) у своїх роботах запропонували введення антиоксидантної терапії у комплексне лікування ПН [109].

Усе більше й більше обговорюють генетичну детермінованість ПН [167]. Міщенко В.П. та співавтори (2012) вважали плацентарну дисфункцію мультифакторною патологією. Дійшли висновку, що визначення спадкової схильності виникнення плацентарної дисфункції повинно ґрунтуватися на виявленні поліморфізму генів ендотеліальної синтази, фолатного циклу та має прогностичне, діагностичне значення [94]. Кузьмін В.Н. та Муррієва Г.А. (2013) довели, що в прогнозуванні ризику передчасних пологів має значення поліморфізм та експресія генів цитокінів [82, 87]. Lamm K.B. та співавтори (2017) висунули гіпотезу, що втрата гену *Inverted formin-2* (*inf2*) вкрай негативно впливає на розвиток хоріального дерева плаценти та є підґрунтям виникнення ПН [210]. Visentin S. та співавтори (2017) у своїх роботах описують патологію дозрівання хоріального дерева плаценти при гіпертонічному стані вагітних [263].

Безсумнівно, дослідники, науковці та лікарі шукають різноманітні патогенетично-обґрунтовані схеми лікування жінок під час вагітності із ПН [6, 102]. Корінець Я.М. та Прокопчук Н.М. (2014) при комплексному обстеженні 50 сімей встановили, що клінічний перебіг вагітності у жінок з репродуктивними втратами в анамнезі супроводжувався високим рівнем невиношування (13,0%), передчасних пологів (13,8%) та ЗВУР (28,7%) на фоні

ПН (60,0%) [76]. У роботах ряду авторів згадується, що на фоні аномалії плаценти виникає ЗВУР плодів, проводилися діагностика та прогнозування перинатальної патології [85, 180].

З огляду на недостатню ефективність загальноприйнятих лікувально-профілактичних заходів дослідниками Бойком В.І. та Лопаткою К.М. (2015) була удосконалена методика корекції плацентарної дисфункції з урахуванням основних особливостей преморбідного фону, причин ПД при попередній гестації, даних про клінічний перебіг вагітності, пологів, стану новонароджених, особливостей післяпологового та неонатального періодів. Отримані клінічні, функціональні, лабораторні, мікробіологічні і вірусологічні результати підтвердили високу ефективність цієї методики [10].

Гошовська А.В. та співавтори (2016) для удосконалення тактики профілактики ПН у жінок груп ризику комплексно досліджували макроскопічні зміни плацент описовим методом, органометричні параметри, які є найбільш інформативними для оцінки ПН. Для гістологічного та гістохімічного дослідження плацентарну тканину забарвлювали за методикою Н.З. Слінченка. Проводили імуногістохімічні методики на плацентарний лактоген [42]. Таким чином, ПН залишається актуальною, дискутабельною проблемою сучасної науки, постійно проводяться дослідження в пошуках виявлення механізмів її формування, морфології та профілактики.

1.2 Уявлення про вплив залізодефіцитної анемії вагітних на формування плацентарної недостатності

Стан крові вагітних жінок цікавить науковців та лікарів багатьох спеціальностей. На сучасному етапі вивчається вплив різноманітної патології крові (ЗДАВ, тромбофілії, тощо) під час вагітності на стан морфологічної картини хоріального дерева плаценти [179, 252]. ЗДАВ трапляється в 90-95% від усіх анемій вагітних жінок [104]. ЗДАВ на сучасному етапі залишається актуальною медико-соціальною проблемою, що загрожує не лише здоров'ю

вагітної, а й зумовлює цілу низку негативних перинатальних наслідків [12]. У розвитку ЗДАВ має значення соціально-демографічний статус жінки, вік та ступінь обізнаності про дану патологію [136, 142], а також наявність в анамнезі патології жіночої репродуктивної системи [111].

Зниження кількості еритроцитів та гемоглобіну має цілу низку характерних ознак [62]. Таким чином, стан крові жінок при ЗДАВ кардинально відрізняється від стану крові жінок з фізіологічною вагітністю у термін 37-40 тижнів [1]. Норма сироваткового заліза у вагітних в першому та другому триместрах вагітності – 8,93-30,4 ммоль/л, для третього триместру вагітності – 7,2-25,9 ммоль/л. Запідозрити початок розвитку ЗДАВ можна опираючись на падіння сироваткового заліза нижче за визначену норму для вагітних, основні зміни еритроцитів крові вагітної (гіпохромія, мікроцитоз, сфероцитоз, ехіноцитоз), зростання інтенсивності вільнорадикальних процесів [13].

ЗДАВ є хворобою, в основі якої – відносний дефіцит заліза в організмі вагітної [60]. Дефіцит заліза є наслідком від'ємного балансу заліза в організмі вагітної протягом тривалого часу [99]. Зокрема, при вагітності в нормі відбуваються такі втрати заліза: перехід до плода 200-370 мг, втрата у плаценту 30-170 мг, «фізіологічна втрата» – 150-200 мг [62, 79]. Таким чином, навіть якщо не враховувати ще витрат у кількості 200-600 мг на посилений еритропоез у матері, втрата заліза навіть при фізіологічній гестації втричі перевищує втрату заліза без вагітності [112]. Miller J.L. у своїх працях наполягає на тому, що ЗДАВ – це досить часта патологія жінок під час вагітності, яка вимагає ретельної діагностики та вчасного початку лікування [227]. ЗДАВ безпосередньо впливає на розвиток самого плода [200]. За результатами проведеного рандомізованого клінічного дослідження (2015) у Танзанії доведено, що прийом мікроелемента заліза жінками протягом вагітності необхідний для профілактики виникнення ПН [182]. Дотримання певної дієти під час вагітності також має значення [247]. Антенатальний прийом заліза знижує ризик смертності плодів [231]. Паралельно проводилося ще одне рандомізоване клінічне дослідження (2016) у Мапуто та Мозамбіку, протягом якого жінки зі

ЗДАВ отримували залізо у різних схемах лікування ЗДАВ. За результатами проведеного дослідження науковці отримали такі ускладнення ЗДАВ: передчасні пологи, низька вага плодів при народженні; порушення працездатності породіль, необхідність застосування кесаревого розтину, перинатальна смерть, смертність жінки [196]. Низка дослідників встановили, що у жінок з залізодефіцитом передчасні пологи виникають частіше у II-ому та III-ому триместрі вагітності [209] і трапляється зниження маси тіла новонародженої дитини [221]. Сучасні пошуки підтримки нормального рівня заліза в крові вагітної жінки тривають і спрямовані на уникнення низки побічних дій [73, 205].

В Україні діє уніфікований клінічний протокол первинної та вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Залізодефіцитна анемія». Цей уніфікований клінічний протокол розроблений на основі адаптованої клінічної настанови, в якій наведена найкраща практика надання медичної допомоги пацієнтам із залізодефіцитною анемією [118]. В уніфікованому клінічному протоколі висвітлено питання профілактики та фактори ризику дефіциту заліза, наведено алгоритм лабораторної діагностики та обґрунтованого визначення діагнозу залізодефіцитної анемії; наведено інформацію, що покращить проведення диференційної діагностики з іншими анеміями. Залізодефіцитна анемія згідно з Міжнародною класифікацією хвороб має свій шифр D50 [74]. Залізодефіцитна анемія у вагітної жінки є загрозливим фактором перебігу вагітності й пологів, виступає детермінантою як фізичного, так психічного розвитку майбутньої дитини [146].

Розрізняють три стадії дефіциту заліза [169, 265]. I стадія – передлатентний дефіцит, коли спостерігається зменшення запасів заліза без зменшення концентрації сироваткового заліза (норма 12,5-30,4 мкмоль/л). Цю стадію можна діагностувати шляхом визначення заліза в біоптатах тканин та при визначенні сироваткового феритину (норма 10-250 нг/л). II стадія – латентний дефіцит заліза, який характеризується виснаженням заліза в депо, але концентрація гемоглобіну в периферичній крові залишається вище нижньої

межі норми. На цій стадії головним біохімічним порушенням метаболізму заліза є зниження насиченості трансферину. III стадія – власне ЗДАВ, коли розвивається падіння концентрації гемоглобіну нижче фізіологічних величин. Залежно від ступеня падіння рівня гемоглобіну розрізняють три ступені тяжкості ЗДАВ: I ступінь – рівень Hb 91-100 г/л; II ступінь – рівень Hb 71-90 г/л; III ступінь – нижче 70 г/л. Фактично III стадію залізодефіциту при вагітності можна розглядати як прояв зриву різноманітних багаторівневих компенсаторних механізмів, які розвиваються при гестації у відповідь на залізодефіцит [146] і в виконанні яких задіяні різні органи. Зокрема, в цьому аспекті є доведеною роль шлунка, нирок, печінки, кісткового мозку та селезінки [107, 173].

Частота ЗДАВ коливається в доволі широкому діапазоні – від 28% до 84%, що залежить від особливостей контингенту вагітних певного регіону та застосованих критеріїв ЗДАВ [1, 147]. Цікавими є факти про те, що ліквідація залізодефіциту у хворих на ЗДАВ може не завершитися достатнім покращенням показників гемоглобіну, морфології та функціональних властивостей еритроцитів [37, 153, 159]. Враховуючи сучасні схеми лікування ЗДАВ, потрібно робити паузи в пероральному прийомі мікроелементу заліза для запобігання можливим ускладненням [238], а також поєднувати прийом заліза з магнієм [95]. Отже, залізодефіцит запускає патологічні процеси, які з певного моменту стають вже самостійними – незалежними або слабо залежними від функцій заліза [228].

Hasegawa J. та співавтори дослідили плаценти протягом 11-13 тижнів гестації та дійшли висновку, що анемія вагітних не впливає на об'єм органу [193]. Саме тому є необхідність вивчати перебіг вагітності, а саме стан плаценти, зокрема за допомогою ультра-звукового дослідження [59]. Це дасть змогу визначити ряд ознак, насамперед, стан кровоносного русла плаценти [229], а також прогнозувати перебіг пологів [91].

Анчева І.А. (2014) в своїх дослідженнях дійшла висновку, що для дисфункції плаценти, асоційованої з дефіцитом заліза, є характерними помірно

виражені зміни гормонального профілю у вигляді зниження продукції прогестерону та пролактину. В роботах Анчевої І.А. також зазначено, що вираженість клінічних проявів дисфункції плаценти визначається тяжкістю залізодефіциту [6].

Попович А.І. та співавтори (2016-2017) у ряді своїх робіт досліджували розподіл різноманітних морфологічних варіантів депозитів кальцію у плаценті за умов залізодефіцитної анемії вагітних та дійшли висновку, що за умов анемії порівняно зі спостереженнями вагітності без анемії частіше виявлялися дрібні гранулярні депозити в СТ хоріальних ворсинок плаценти [105, 106].

Biswas S. та співавтори (2014) вивчали морфологічну картину плацент від жінок із залізодефіцитною анемією під час вагітності. У своїх роботах автори описують збільшення кількості ядер у СТ термінальних ворсинок плаценти та синцитіальних вузликів [149]. Існує прямопропорційна залежність між кількістю синцитіальних вузликів і ступенем залізодефіциту [204]. Lelic M. та співавтори у своїх роботах називають ЗДАВ сидеропенічною анемією та вважають, що при анемії вагітних часто зустрічається пришвидшення розвитку хоріального дерева плаценти [211]. Soni R.B. та співавтори описують пряму залежність фіброзу строми хоріальних ворсинок від ступеня залізодефіциту [255].

Грунтовні ультрамікроскопічні дослідження плаценти при ЗДАВ були проведені рядом учених [2]. Ці дослідження показали, що при ЗДАВ І ст. ядра СТ різноманітні за формою, мають неправильні контури. Ядерний хроматин концентрується переважно на периферії ядер або розташовується дифузно. Гранулярний ендоплазматичний ретикулум у вигляді нечисленних цистерн та везикул. Ядра клітин Лангханса – різноманітної величини та форми, з конденсацією хроматину на периферії. Сполучнотканинна строма ворсин містить колагенові фібрили, які розташовуються в основному розрізнено або інколи групуються в невеликі тяжисті структури. Клітинний склад строми ворсин переважно представлений фібробластами. При ЗДАВ II-III ступенів відзначається підвищена вакуолізація синцитію, згладжування мікроворсинок

на зовнішній поверхні синцитію, нерівномірне розширення цистерн гранулярного та агранулярного ендоплазматичного ретикулуму [2]. Мітохондрії зменшуються в розмірах, матрикс ущільнюється [236]. Базальні мембрани переважно стовщені, місцями розрихлені. Ендотеліоцити набухлі, мітохондрії в них також набухлі. В просвіті капілярів – сладж, а також еритроцити неправильної форми [2].

У сучасній літературі часто трапляються результати досліджень, що присвячені експресії тих чи інших генів. Запорожан В.М. та співавтори (2014) вивчали один з найбільш важливих у процесі адаптації до гіпоксії факторів – це HIF1 (hypoxia-inducible factor-1), який є гетеродимером. Складається HIF1 з альфа- та бета-субодиниць. Цей фактор регулює гомеостатичну відповідь на гіпоксію шляхом експресії багатьох генів, залучених у процеси регуляції окиснювального фосфорилування, гліколізу, еритропоезу, ангіогенезу й апоптозу. У породілей із залізодефіцитною анемією в анамнезі експресія гена HIF1A значно збільшується порівняно з жінками з фізіологічним плином вагітності [64].

Згідно з дисперсійним аналізом і обрахуванням величини фактора за методом Снедекора всі хоріальні ворсини реагують на ЗДАВ шляхом перебудови властивих їхньому типу структурних елементів. Реакція ворсин є неоднаковою. Найменшою кількістю структурних елементів та силою змін реагують стовбурові ворсини. Сильніше варіюють структурні елементи проміжних зрілих і термінальних ворсин без синцитіокапілярних мембран. Найбільш виражено змінюють свою структуру термінальні «спеціалізовані» ворсини [54]. Rohini M. та співавтори (2013) дослідили морфологію хоріального дерева плаценти при важкому ступені важкості ЗДАВ та патології хоріального дерева плаценти. Встановлено, що плаценти мають менші розміри; трапляються кальцифікати та поодинокі інфаркти; посилюється формування синцитіальних вузликів, стромальний фіброз ворсинок плаценти та фібриноїдний некроз [243, 248].

Дослідженнями останніх років встановлено, що в патогенезі анемії вагітних важливе місце займають зміни в системі гемокоагуляції [16]. Встановлено, що у II-III триместрах вагітності розвивається підвищення загального гемокоагуляційного потенціалу, особливості якого залежать від терміну гестації та ступеня анемізації матері [83, 98].

Таким чином, ЗДАВ є одночасно і медичною, і соціальною проблемою. Її рішення вимагає залучення лікарів різних спеціальностей, працівників охорони здоров'я та науковців. Широка поширеність ЗДАВ, важкі й часто незворотні наслідки анемії для плода [69] та новонародженого вимагають більш пильної уваги до цієї проблеми на державному рівні [114]. Питання раннього переривання вагітності, мертвонародження [162] внаслідок ЗДАВ та ПН широко обговорюється в світі [218, 253]. У літературі згадується про стійкий від'ємний приріст на території України у жінок з плацентарною дисфункцією та з обтяженим акушерським анамнезом [124]. Coviello E.M. (2015) та Derricott H. (2013) вважають причинами ранніх неонатальних втрат та мертвонародження проблеми розвитку хоріального дерева плаценти [170, 177]. Основною кінцевою задачею лікарів повинно бути збереження життя та підтримка загального стану плода та новонароджених [197].

У плаценті протягом гестації одна з форм диференціювання хоріальних ворсинок відбувається шляхом прямої трансформації проміжних незрілих хоріальних ворсинок у проміжні зрілі. Водночас при ЗДАВ така трансформація порушується. Це означає, що вже з періоду гестації 17-20 тижнів, за умови, якщо ЗДАВ триває не менше 4 тижнів, у плаценті розвиваються перші порушення дозрівання хоріальних ворсинок [143].

За звичайних умов у периферійних відділах плаценти в одиниці об'єму знаходиться менша кількість хоріальних ворсинок (також менший їх питомий об'єм), ніж у центральних та парацентральних відділах [143], а при ЗДАВ ситуація щодо щільності розташування хоріальних ворсинок по тканині плаценти між різними відділами має тенденцію до урівноваження.

Barroso F. та співавтори (2011) зауважують, що 30% у всіх жінок, які страждали від ЗДАВ, після пологів продовжується залізодефіцит [139]. У літературі ми зустріли роботи Cerami C. (2017), в яких йде мова про життєву необхідність мікроелемента заліза для розвитку плода та подано опис ситуації про те, що діти з грудним молоком не отримують достатньої кількості заліза від матерів після ЗДАВ [161].

Досі серед науковців немає одностайної думки щодо розуміння впливу ЗДАВ на формування ПН у контексті передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти. В літературі проводять огляд новонароджених від матерів зі ЗДАВ, часто відзначається гіпотрофія плода, низька маса тіла, низька оцінка за шкалою Апгар, високий ризик неонатальної смертності [130].

1.3 Проблема передчасних пологів та передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти

Передчасне дозрівання хоріального дерева – це коли розвиток хоріальних ворсинок випереджає нормальний перебіг гестації [143]. Зокрема передчасне дозрівання хоріального дерева проявляється в тому, що міняється співвідношення між різними типами хоріальних ворсинок у сторону більш зрілих. Статистика передчасного дозрівання плаценти в Україні, на жаль, поки що не ведеться. У країнах Європи та в США передчасне дозрівання хоріального дерева реєструється при передчасних пологах у терміні вагітності 29-32 тижні із частотою близько 50%, а у терміні 33-36 тижнів – із частотою приблизно 33% [41, 143]. З огляду на наведені цифри, необхідно вказати дані про частоту передчасних пологів у загальному. Згідно зі світовою статистикою, частота передчасних пологів коливається в діапазоні 3-20%. Незважаючи на ступінь економічного розвитку країн, передчасні пологи залишаються на стабільно високому рівні [140]. У США, наприклад, щорічно 7,5% від загальної кількості пологів – передчасні; у Франції частота передчасних пологів з середини 80-х

років тримається на сталому рівні – 5%, в Австралії – приблизно 6%, в Норвегії – 8%, в Шотландії – 6,8% [203, 224, 254].

У вагітних з маніфестованим залізодефіцитом гестоз зустрічається в 1,5 рази частіше, передчасне переривання вагітності становить 15-42%, у тому числі і передчасні пологи, багатоводдя, несвоєчасне вилиття навколоплідних вод спостерігається у кожної третьої вагітної, слабкість пологової діяльності – у кожної шостої жінки [4].

А.П. Милованов висунув гіпотезу про те, що порушення дозрівання хоріального дерева призводить врешті до недостатності посліду [93]. Така гіпотеза ґрунтується на тому, що в процесі дозрівання хоріальних ворсинок поступово підсилюються можливості плаценти щодо трофічної, гормоно- та білок-продукуючої, а також детоксикуючої функцій. Зростає кількість кровоносних судин та ємність кровоносного русла хоріального дерева, стоншується плацентарний бар'єр, зростає продукція плацентарного лактогену і специфічних білків у дозріваючому трофобласті хоріальних ворсин. Різні тривалі впливи можуть порушити процеси дозрівання хоріального дерева. Таку ситуацію А.П. Милованов означив науковим терміном «плацентарна форма недостатності», тобто патологія хоріального дерева [93].

У роботах Schweikhart та співавт. (1986) описано, що серед 50% усіх досліджуваних випадків передчасних пологів в період з 29-ого по 32-ий тиждень вагітності та 33% передчасних пологів в період з 33-ого до 37 тижнів вагітності спостерігався стан вільозного дерева, який відповідає морфології зрілої плаценти [41, 143].

Дослідники використовували термін *maturitas praesox placentae* в тих випадках, коли спостерігалось передчасне дозрівання ворсинок плаценти та у випадках, коли морфологія ворсинок сягала структурних особливостей значно раніше 40-го тижня вагітності. В інших ситуаціях, коли формування термінальних ворсинок випереджало нормальну зрілість, процес означили як гіперзрілість плаценти [120, 143, 155].

У літературі згадується, що плацента з передчасним дозріванням може потенціювати передчасні пологи. Морфологія передчасного дозрівання ворсинок плаценти характеризується особливостями ворсинок, які в нормальних умовах з'являються на більш пізніх стадіях [225, 226].

У роботах Gomez-Lopez N. (2017) висловлюється думка про те, що передчасне дозрівання децидуальних оболонок потенціює передчасні пологи, а також описуються ознаки «старіння» плаценти у жінок, які перенесли фізіологічний перебіг вагітності [189].

Оцінка зрілості хоріального дерева вирішується за допомогою класифікації порушень дозрівання хоріального дерева, встановлення відповідності хоріального дерева певній рубриці згідно з класифікацією [251]. Існує проста класифікація, згідно з якою виділяють такі форми порушень дозрівання хоріального дерева: передчасне дозрівання хоріальних ворсинок, уповільнене дозрівання хоріальних ворсинок, утворення ненормальних типів ворсинок [41, 120]. Проте конкретні критерії зазначеної класифікації щодо віднесення морфології хоріального дерева до передчасного чи уповільненого дозрівання не надавалися. Для визначення відповідності відсотків певних типів хоріальних ворсин певного терміну гестації існує класифікація, яка обґрунтована не тільки емпірично, але й математично за допомогою теорії інформації шляхом обрахування величини ентропії різних типів хоріальних ворсинок [53]. Для визначення типів хоріальних ворсинок треба застосовувати адаптовану класифікацію. Критерієм зрілості хоріального дерева має залишатися відповідність відсотків певних типів хоріальних ворсинок показникам конкретному терміну гестації [45, 52]. На сьогодні класифікація типових хоріальних ворсинок плаценти виглядає таким чином:

Класифікація хоріальних ворсинок:

1. Мезенхімальні хоріальні ворсинки.
2. Ембріональні хоріальні ворсинки.
3. Проміжні незрілі хоріальні ворсинки.
4. Проміжні зрілі хоріальні ворсинки.

5. Стовбурові «ранні» хоріальні ворсинки.
6. Стовбурові «пізні» хоріальні ворсинки.
7. Термінальні хоріальні ворсинки.
8. Термінальні «спеціалізовані» хоріальні ворсинки.

Окрім того, для оцінки зрілості хоріального дерева потрібно виділяти такі вільозні утворення як трофобластичні та вільозні відростки. Наводимо коротку характеристику вказаних ворсинок:

1. Мезенхімальні хоріальні ворсинки. Їх назва пов'язана з примітивною будовою строми, яка містить лише поодинокі уривчасті колагенові волокна. Строма складається з основної речовини, мезенхімальних клітин з кількома довгими відростками. Іноді знаходять поодинокі стромальні канали та клітини Гофбауера. Судини відсутні.

2. Ембріональні хоріальні ворсинки. Назва ворсинок запропонована науковцем А.М. Миловановим [93] і пов'язана з тим, що при фізіологічній вагітності вони виникають і домінують в ембріональний період онтогенезу, хоча їх присутність може бути зафіксована до кінця гестації. Окрім збільшення розмірів, принциповою відмінністю ембріональних ворсинок від мезенхімальних є утворення вузьких кровоносних капілярів. В ембріональних ворсинках порівняно з мезенхімальними збільшується питома вага СТ, стромальних каналів і клітин Гофбауера.

Мезенхімальні та ембріональні ворсинки також спостерігаються протягом всього періоду гестації, але на початку (5-8 тиждень) відзначається їх максимальна відсоткова кількість, а в пізні терміни виявляються лише поодинокі ворсинки вищеназваних типів або вони відсутні. Треба зазначити, що мезенхімальні та ембріональні хоріальні ворсинки в пізні терміни гестації можуть відрізнитися за будовою від таких ж типів хоріальних ворсинок у ранні терміни, але їх основні морфологічні ознаки все ж зберігаються.

3. Проміжні незрілі хоріальні ворсинки. Крім менших розмірів та зміни форми ворсинок до овальної, відмінністю є те, що суттєво змінюється відсоткове співвідношення між структурними елементами. Зокрема, значно

збільшується питома вага синцитіотрофобласта (але не більше ніж 50%), стромальних каналів та клітин Гофбауера. Проміжні незрілі ворсинки вперше з'являються у 7-8 тижнів гестації, максимальний відсоток їх припадає на 11-16 тижнів, але невелика кількість все ж залишається до кінця вагітності.

4. Проміжні зрілі хоріальні ворсинки. Клітини мезенхімального типу не визначаються. СТ переважає над трофобластом. Різко зростає питома вага волокон фібробластичного типу; стромальні канали та клітини Гофбауера зрідка знаходять у ворсинках. Незначно зростає питома вага кровоносних судин. Перші проміжні зрілі ворсинки при фізіологічній вагітності виявляють у 13-16 тижнів, і хоч максимальний відсоток визначають у 21-32 тижні гестації, все ж наприкінці вагітності їх відсоткова кількість залишається також порівняно високою.

5. Стовбурові «ранні» хоріальні ворсинки. Бувають переважно в ранні терміни гестації – з'являються в термін гестації 7-8 тижнів, максимальна їх відсоткова кількість припадає на 13-20 тижнів вагітності. Морфологічно характеризуються незрілою строною, що містить стромальні канали та клітини Гофбауера. Характерною є наявність ретикулярних волокон. Артерії та вени звичайної будови або ж іще не мають сформованої м'язової оболонки, але все ж оточені чітким адвентицієм. Поверхня «ранніх» хоріальних ворсинок вкрита ЦТ та СТ.

6. Стовбурові «пізні» хоріальні ворсинки. Вперше визначаються у 21-24 тижні, з найбільшим відсотком виявлення між 28-36 тижнями. Характеризуються відсутністю стромальних каналів і клітин Гофбауера. Волокнистий компонент представлений колагеновими волокнами. Поверхня цих ворсинок вкрита СТ або ж він заміщений шаром фібриноїду.

7. Термінальні хоріальні ворсинки. Ці хоріальні ворсинки є результатом дихотомічного ділення проміжних зрілих хоріальних ворсинок або бокових відгалужень від них і стовбурових хоріальних ворсинок. Вони за розмірами є найдрібнішими серед усіх тих елементів хоріального дерева, що містять строми. Епітелій представлений СТ. Строма має велику кількість капілярів, які

часто синусоїдально розширені. Термінальні ворсинки з'являються у 25-27 тижнів і потім з 28-го тижня до кінця вагітності домінують. Перші перетворення їх у термінальні «спеціалізовані» ворсинки при фізіологічній вагітності здійснюється у 28-32 тижні з максимальним відсотком у 37-40 тижнів.

8. Термінальні «спеціалізовані» хоріальні ворсинки. За результатами досліджень А.П. Милованова, головною відмінністю від звичайних термінальних ворсинок є наявність так званих синцитіокапілярних мембран [93]. Трофобластичні та вільозні відростки – ці утворення не є в прямому розумінні хоріальними ворсинками, але урахування цих утворень набуває принципового значення, так як вони є попередниками мезенхімальних та ембріональних хоріальних ворсинок – тобто джерелом росту хоріального дерева. Трофобластичні та вільозні відростки можна спостерігати з 5-го по 40-й тиждень вагітності, але максимальний їх відсоток фіксується між 7-10 тижнями.

Трофобластичні відростки – це ділянки однонаправлено проліферуючих стовбурових клітин переважно на проміжних незрілих хоріальних ворсинках або на стовбурових «ранніх» хоріальних ворсинках.

Вільозні відростки утворюються при вrostанні строми хоріальних ворсинок у трофобластичний відросток. Найкраще виявляти трофобластичні та вільозні відростки з використанням маркерів клітинної проліферації, адже у відростках відбуваються найбільш інтенсивні процеси проліферації стовбурових клітин. Завдячуючи дослідженням професора І.С. Давиденка та співавт. (2005-2010), була розроблена класифікація, яка демонструє відсоткове співвідношення різних типів вільозних утворень у різні терміни у випадках фізіологічної вагітності [52, 55].

ЦТ хоріальних ворсинок на їх поверхні зливається у симпластичну багатоядерну структуру – СТ [143]. Під час дозрівання СТ накопичує різні специфічні молекули, зокрема плацентарний лактоген [127, 174]. Цей гормон присутній на ранніх термінах вагітності в усіх типах хоріальних ворсинок, але його концентрація найбільш висока у «пізніх» стовбурових ворсинках,

проміжних зрілих та обох типах термінальних ворсинок, тобто продукція плацентарного лактогену зазвичай зростає з терміном фізіологічного перебігу гестації [43]. Одним із гормонів плаценти також є хоріонічний гонадотропін. Синтез хоріонічного гонадотропіну здійснюється клітинами трофобласта після імплантації ембріона (з 6-8 дня після запліднення яйцеклітини) і триває протягом всієї вагітності [40, 72]. При нормальному перебігу вагітності в перші тижні концентрація хоріонічного гонадотропіну подвоюється кожні 2 дні [212]. Пік концентрації хоріонічного гонадотропіну припадає на 10-11 тиждень вагітності, потім його концентрація починає повільно знижуватися [264]. До ПН може призвести зниження кількості чи активності тих чи інших біологічно активних речовин плаценти. Таким чином, зниження активності ферменту α -кетоглутарат-дегідрогенази призводить до порушення морфологічної структури плацентарного бар'єру [217].

Boelig R.C. та співавтори називають у своїх роботах різноманітні варіанти профілактики передчасних пологів у жінок, включаючи механічні варіанти. Автори описують можливість повторних передчасних пологів у однієї і тієї ж жінки [151], особливо у жінок з позитивною реакцією на 17- α -гідроксипрогестерон капроат [233].

Одним із цікавих та показових в аспекті встановлення ПН є плацентарна лужна фосфатаза [126]. Лужна фосфатаза – це групове поняття і включає в себе ферментні молекули з різною хімічною будовою, спільною ознакою яких є здатність відщеплювати фосфат від багатьох типів молекул, при цьому ці ферменти проявляють найбільшу активність у лужному середовищі. Плацентарна лужна фосфатаза є водночас і ферментом, але й одним зі специфічних білків трофобласта й відіграє важливу роль у функціональній здатності плаценти [133]. Уявлення про її концентрацію можна отримати за допомогою імуногістохімічного методу, і про ферментну активність – завдяки тому, що плацентарна лужна фосфатаза є термостабільним ферментом, тобто її ферментні властивості, на відміну від інших лужних фосфатаз, зберігаються навіть після термічної обробки при 58°C [128].

На сьогодні одним із найбільш обґрунтованих молекулярних механізмів природної стимуляції пологів є зростання кількості та активності в плаценті ферменту 11 β -HSD-2 з подальшим запуском відомого каскаду подій, які врешті завершуються як підсиленою скоротливою діяльністю матки, так і розкриттям її шийки [230]. Проте дослідники все частіше у своїх роботах описують причини передчасних пологів та ускладнення, які виникають як у породіллі, так і в плода [168, 257]. Bredeson S. та співавтори припускають, що кисневий стрес може бути однією з причин [152, 157]. Menon R. та співавтори висувують гіпотезу, що на фоні передчасного старіння хоріального дерева плаценти та ембріональних оболонок будуть потенціюватися передчасні пологи [225, 226]. Martin L.F. та співавтори описують передчасні пологи, що сталися на фоні хоріонамніоніту різноманітної етіології [222]. Vuzyan L.O. в своїх роботах описує зв'язок передчасних пологів зі ЗДАВ [158]. Ряд авторів усе частіше досліджують ПН від жінок із преєклампсією та еклампсією в анамнезі [119, 163, 164]. Незважаючи на відомі маркери еклампсії – такі як плацентарний фактор росту плаценти (ангіогенний фактор) [166] та FMS-подібна тирозинкіназа-1, у жінок виникають передчасні пологи [66, 171]. Romero R. та співавтори досліджують причини передчасних пологів у жінок з недостатністю гормону вагінального прогестерону [244].

Гідроксистероїд-дегідрогенази (HSD) регулюють використання та активацію рецепторів стероїдних гормонів шляхом перетворення цих гормонів в їх неактивні метаболіти. Існують різні класи HSD. 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11 β -HSD) каталізують взаємоперетворення активних глюкокортикоїдів (таких як кортизол і кортикостерон) в їх інертні форми (такі як кортизон і 11-дегідрокортикостерон). Ізоформа 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази 1 типу (11 β -HSD-1) широко в великій кількості експресується в печінці, жировій тканині, головному мозку, легенях, тоді як експресія ізоформи 2 (11 β -HSD-2) обмежується тканинами з мінералокортикоїдними рецепторами, такими як нирки, кишківник та плацента [216]. Було висловлено припущення про те, що інактивація глюкокортикоїдів за допомогою ферменту 11 β -HSD є

обов'язковим механізмом в надниркових залозах, що дозволяє зв'язування альдостерону з мінералокортикоїдними рецепторами, і в плаценті – для захисту плода від високого рівня циркулюючих материнських глюкокортикоїдів [154].

Порушення процесів васкулогенезу або ангіогенезу плаценти призводять до ПН [259, 260]. Вважається, що віментин є компонентом цитоскелету, відповідальним за підтримку цілісності клітин. Віментин відіграє значну роль у підтримці та закріпленні положення органел у цитозолі [153]. На сьогодні приділяється увага вивченню експресії VEGF (vascular endothelial growth factor) та віментину структурами хоріального дерева плаценти. Saragade P. та співавтори (2017) запропонували вважати дослідження експресії віментину судинного русла трофобласта цінним інструментом для вивчення ПН [249]. У своїх роботах Анчева І.А. (2014-2016), вивчаючи експресію віментину у ендотеліюцитах кровоносного русла хоріального дерева плаценти, зазначає, що вивчення віментину є зручним молекулярним фактором зростання. Дослідження експресії віментину дає змогу оцінити активність ангіогенезу в тканині та прогнозувати розвиток судинної системи [5].

При вивченні впливу ЗДАВ на процеси васкулогенезу та ангіогенезу вчені дійшли висновку, що в плаценті виникають такі компенсаторні реакції, які спрямовані на покращення перфузії структурних елементів фетоплацентарного комплексу, в тому числі, на активацію ангіогенезу [5]. Науковці зауважують, що імуногістохімічне дослідження мезенхімального фактора віментин в умовах впливу ЗДАВ виявило виражену інтенсивність експресії віментину в базальній мембрані судин ворсинок з ангіогенезом. Таким чином, дослідження ступеня експресії віментину в умовах передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ, імовірно, дасть зрозуміти можливі механізми виникнення ПН.

Процеси обмеженого протеолізу в інтервільозному фібриноїді в місцях депозитів кальцію у вагітних зі ЗДАВ при передчасних пологах були досліджені рядом авторів. Показано, що процеси обмеженого протеолізу інтенсифікуються за умов ЗДАВ [71, 103, 110]. Ферментативний гідроліз білків

і пептидів каталізується протеолітичними ферментами, такими як пептид-гідролазами та протеазами, і грає важливу роль в регуляції обміну речовин в організмі. З протеолізом пов'язані фундаментальні процеси життєдіяльності: внутрішньоклітинний розпад білків і регуляція їх елімінації, живлення, морфогенез, захисні реакції, адаптаційні перебудови обміну. Обмежений протеоліз характеризується вибірковістю гідролізації одного або кількох пептидних зв'язків в молекулі білка [143]. Вказана гістохімічна методика самими авторами використовувалася для визначення загального білка в певних структурах, оскільки стехіометрично дозволяла виявляти аміногрупи білків. Однак пізніше з'ясувалося, що особливістю цієї методики є те, що нею не виявляються приховані аміногрупи білків, а візуалізуються тільки вільні групи протеїнів. Отже, ця методика показує не стільки загальну кількість білка, а кількість неприхованих (вільних) аміногруп білків. Варто зазначити, що при завершеному протеолізі ця методика не є ефективною, бо відбувається руйнування білків до розчинних амінокислот, отже, гістохімічно їх виявити неможливо, бо розчинні амінокислоти вимиваються в розчинах у процесі виготовлення мікропрепаратів [9, 143]. Однак якщо виникає втрата білками більш високого ступеня структурної організації (денатурація білків), то приховані аміногрупи білків стають вільними – доступними для окиснення нінгідрином [9]. Отже, якщо загальна кількість білка не змінюється, а забарвлення в нінгідриново-шифововській реакції зростає, це свідчить про денатурацію білків. На сьогодні відомо, що цей процес має контрольований характер, а сам контроль здійснюється певними ферментами, тому такий процес отримав назву обмежений протеоліз. Біологічне значення обмеженого протеолізу полягає в тому, що він призводить до того, що незважаючи на достатню кількість білка (що може бути показано, наприклад, за допомогою методики з бромфеноловим синім за Бонхегом), протеїн втрачає здатність виконувати свої функції. Це стосується як білків-ферментів, так і структурних білків або сигнальних молекул протеїнової природи чи гормонів. Таким чином,

гістохімічне визначення обмеженого протеолізу є одним із тонких методів встановлення однієї з форм альтерації структур [120, 143].

Обмежений протеоліз білкових молекул має першорядне значення для регуляції обміну речовин в організмі. Реакції обмеженого протеолізу беруть участь у процесі утворення й інактивації практично всіх ферментів, гормонів та інших біологічно активних білків і пептидів, отже, в контролі активності основних біорегуляторів [71, 120].

Процеси регуляції чисельності клітин відіграють важливу роль у формуванні органів у процесі їхнього розвитку [61, 123]. За умов відсутності екстремальних впливів регуляція чисельності клітин здійснюється переважно шляхом регуляції інтенсивності клітинної проліферації процесів апоптозу (відмирання), які в нормі перебувають між собою у певному балансі. Дослідження процесів регуляції чисельності клітинної маси вільозного трофобласта плаценти при різній патології плаценти у гестаційному аспекті допомагають уточнити механізми тої чи іншої патології. Термін «клітинна маса» стосовно вільозного трофобласта застосований тут не випадково, а з тієї причини, що вільозний трофобласт складається не тільки з ЦТ (окремих одно- та двоядерних клітин), але і з СТ, який по суті є симпластом (коли велика кількість клітинних ядер розташовані у суцільній масі цитоплазми), причому з плином вагітності маса вільозного ЦТ зменшується, а маса СТ зростає. Проліферативні процеси у вільозному трофобласті відбуваються тільки в цитотрофобластичних клітинах [143]. Іноді їх називають камбіальними (поліпотентними) клітинами. За сучасними уявленнями маса СТ плаценти збільшується за рахунок вливання ЦТ в СТ [178]. Тобто процеси зростання клітинної маси трофобласта відбуваються за рахунок проліферації ЦТ [77, 93]. Процеси ж апоптозу можуть відбуватися як в ЦТ, так і в СТ, причому в останньому вони є значно вираженішими [145]. Процеси проліферації можна оцінити імуногістохімічним методом, застосовуючи первинні антитіла проти проліферативних антигенів PCNA (proliferating cell nuclear antigen) або Ki-67, які визначаються в клітинних ядрах. Останнім часом антиген Ki-67 вважається

більш надійним маркером клітинної проліферації [58, 123]. Ситуація з оцінкою процесів апоптозу є складною, бо у великій кількості існують різні механізми регуляції цих процесів. Щодо вільозного трофобласта, то на сьогодні вважається, що в ньому відбувається переважно так званий Вах-залежний апоптоз [143], коли проапоптотичний протеїн Вах (Bcl-асоційований X-протеїн), переходячи з мономерної форми в гомодимерну чи гомополімерну, в клітинних органелах запускає каскад реакцій, що неминуче призводять до переходу подій з органел на територію клітинних ядер з інтенсифікацією процесів ферментних міжнуклеосомальних розривів ДНК. Протидіє апоптотичному потенціалу протеїну Вах переважно протиапоптотичний протеїн Bcl-2, який утворює з протеїном Вах гетеродимери, таким чином деактивуючи проапоптотичну функцію протеїну Вах. Отже, в трофобласті процеси регуляції клітинної маси найбільш доцільно вивчати через оцінку експресії антигенів Ki-67, Bcl-2 та Вах, що ефективно здійснюється імуногістохімічним методом [121].

Ki-67 – це великий 345, 395 kDa ядерний протеїн, визначається у кількох фазах клітинного циклу, а саме в кінці G1-фази, протягом всієї S-фази, G2-фази та М-фази. В G0-фазу білок Ki-67 не визначається [123]. Протеїн Ki-67 може визначатися в окремих ядрах СТ [143], що підтверджує гіпотезу про репаративну функцію цього протеїну для ДНК, хоч варто зазначити, що точні молекулярні механізми участі протеїну Ki-67 поки що невідомі. Проте відомо, що ядерний негістоновий білок Ki-67 демонструє проліферативну активність клітин. Рівень білка Ki-67 дуже низький в клітинах, які перебувають у G0-фазі, тобто коли клітина не ділиться, і різко зростає у проліферуючих клітинах [123, 232].

В основі порушення дозрівання хоріального дерева відіграють значну роль і зміни процесів регуляції чисельності клітин – клітинної проліферації та Вах-залежного апоптозу. Як пригнічення, так і активація вказаних процесів може спричинити порушення дозрівання плаценти [2].

Вах належить до сімейства Bcl-2 протеїнів, яке включає ряд білків, одні з яких мають проапоптотичні властивості, а інші – протиапоптотичні [143]. Білок Bcl-2 вперше був виявлений в В-лімфоцитах CLL/Лімфоми-2 і тому отримав відповідну назву. Розташовується він у мембранах мітохондрій, ендоплазматичного ретикулуму та в оболонці ядра [203]. Протиапоптотичний білок Bcl-2 відіграє важливу роль у протистоянні апоптотичним факторам. У спеціальних експериментах показано, що крім властивостей зв'язувати протеїн Вах Bcl-2 має також протиоксидантні властивості [101].

У плаценті експресія протеїну Bcl-2 протягом усього періоду вагітності добре вивчена. Він експресується в СТ, ЦТ ворсин та МПД. Експресія протеїну Bcl-2 в цих клітинах протягом вагітності є незмінною.

Таким чином, регуляція апоптозу в клітинах плаценти зводиться переважно до протистояння двох основних протеїнів Вах та Bcl-2 [145].

В акушерській практиці для вчасного виявлення порушень розвитку плаценти, особливо розладів матково-плацентарного кровообігу, що в свою чергу слід розглядати як плацентарну дисфункцію, проводять магнітно-резонансну томографію [160] та ультразвукові дослідження [11, 187]. Ультразвукові методи діагностики ПН досить поширені серед лікарів акушерів-гінекологів [223]. Нагайцева Е.А. та Серова Н.С. (2013) застосовували у своїх дослідженнях ультразвукову діагностику при нетиповій будові плаценти у вагітних жінок з подальшим визначенням ступеня зрілості плаценти [96].

Грунтовні ультразвукові дослідження були проведені Т.П. Яремчук та співавторами. Ці дослідження показали, що передчасне дозрівання плаценти – це передчасна поява ехографічних ознак II ступеня зрілості раніше 32 тижнів та III ступеня зрілості плаценти раніше 37 тижнів вагітності. [131]. У випадках передчасного дозрівання плаценти також часто візуалізуються множинні дрібні ехопозитивні та ехонегативні структури, які ідентифікуються як петрифікати, кісти та інфаркти плаценти. Передчасне дозрівання плаценти спостерігається при клінічно діагностованих ускладненнях перебігу вагітності, екстрагенітальній патології, внутрішньоутробних інфекціях, урогінекологічній

патології, синдромі затримки внутрішньоутробного розвитку плода або рідше буває ехографічною знахідкою при буденному черговому УЗД вагітної. З передчасним дозріванням плаценти асоціюються численні випадки перинатальної смертності [131]. Визначення груп ризику та раціональна акушерська тактика є основним методом запобігання репродуктивних втрат [94, 124, 131].

Щодо ступеня зрілості плаценти, в акушерській практиці запропоновано 4 ступені ехографічного стану плаценти:

Ступінь 0 – (13-19 тижнів гестації) характеризується гомогенною ехонегативною паренхімою плаценти та добре візуалізованою рівною безперервною лінією амніохоріальної пластинки. Базальний шар зливається з тканиною плаценти.

При I ступені (20-31 тиждень) у плаценті з'являються ехопозитивні «знаки» у вигляді ліній та «ком», хоріальна пластина набуває злегка ундулюючого вигляду. Базальна пластина не визначається.

II ступінь зрілості плаценти (32-37 тижнів) характеризується підвищеною акустичною щільністю плаценти з точковим розподілом у тканині, заглибинами хоріальної пластини, які не доходять до базального шару, базальною пластиною у вигляді ліній вздовж стінки матки.

При III ступені зрілості (38-41 тижнів) паренхіма плаценти розділена на округлі щільні дольки з розрідженням у центрі, в хоріальній пластині визначаються вдавлення. Базальна пластинка представлена пунктирною білою лінією.

Одним з актуальних питань проблеми передчасного дозрівання плаценти є визначення ехографічно-морфологічних співвідношень структурних змін у плаценті в динаміці гестаційного процесу та при передчасному дозріванні плаценти. Ехографічно-морфологічні зіставлення при фізіологічній вагітності підтвердили повну відповідність ехокартини плаценти, що розвивається, етапам гістогенезу ворсинок.

Отже, передчасне дозрівання плаценти діагностується ехографічно з 20 до повного 36 тижня вагітності як передчасна поява ознак II або III ступеня зрілості плаценти та петрифікатів [131].

Передчасне дозрівання плаценти – це ехосонографічна ознака зрілості плацентарної тканини раніше гестаційного терміну. Передчасне дозрівання плаценти є ехографічною ознакою ПН [131].

Таким чином, проведений аналіз літератури показав, що на сучасному етапі не вирішено питання гестаційної діагностики патології плаценти при передчасному дозріванні хоріального дерева у вагітних із залізодефіцитною анемією, зокрема для термінів гестації 29-32 та 33-36 тижнів; не встановлені критерії діагностики вказаної патології; досі серед науковців немає сталої думки щодо механізмів виникнення передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти в поєднанні зі ЗДАВ.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріал дослідження

Об'єктом нашого дослідження стало передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів у поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних (ЗДАВ). Вибір матеріалу для дослідження був обґрунтований даними літературних джерел про те, що у сучасній практиці патологоанатомів трапляються спостереження, коли в жінок зі ЗДАВ реєструється не тільки гальмування розвитку хоріальних ворсинок, а навпаки – передчасне його дозрівання [57, 131]. Передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти діагностується за збільшенням відсотка зрілих форм хоріальних ворсинок у порівнянні з гестаційною нормою й відзначається в матеріалі абортів та при передчасних пологах [53]. Також автори вказують, що передчасне дозрівання хоріального дерева реєструється при передчасних пологах у терміні вагітності 29-32 тижні – із частотою близько 50%, а у терміні 33-36 тижнів із частотою – 33% [41, 143].

На сьогодні актуальним видається дослідження впливу ЗДАВ на морфологію передчасного дозрівання хоріального дерева. Морфологічні особливості незрілості хоріального дерева при ЗДАВ вивчають багато науковців [54, 55, 64, 77]. У той же час поєднання передчасного дозрівання хоріального дерева та ЗДАВ є високо імовірним. Частота анемій у вагітних є доволі високою і коливається від 28% до 84% згідно з даними світової статистики [1, 147]. Враховуючи аналітичні дані з різних джерел інформації, нами для вивчення було обрано порушення дозрівання хоріального дерева плаценти в поєднанні зі ЗДАВ.

Матеріалом для дослідження слугували 182 плаценти, отримані після пологів від жінок віком 23-35 років з рівномірним розподілом у групах спостереження. Сформовані групи були однотипними за віковим цензом,

соціальним статусом жінок, видом занять, місцем проживання відносно промислових підприємств зі шкідливими викидами.

Дизайн дослідження передбачав виділення двох основних груп спостереження – поєднання передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ у терміни – 29-32 та 33-36 тижнів вагітності; для зіставлення отриманих результатів та для кращого аналізу нами було сформовано по три групи порівняння на кожен термін гестації окремо. Отже, дизайн дослідження виглядав таким чином:

Основна група 1 – спостереження поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева у 29-32 тижнів вагітності.

Група 1А (порівняння) – спостереження передчасного дозрівання хоріального дерева без ЗДАВ при пологах у 29-32 тижнів вагітності.

Група 1Б (порівняння) – спостереження ЗДАВ у 29-32 тижнів вагітності, коли будова хоріального дерева відповідала терміну гестації.

Група 1В (порівняння) – спостереження без ЗДАВ у 29-32 тижнів вагітності, коли будова хоріального дерева відповідала терміну гестації.

Основна група 2 – спостереження поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева у 33-36 тижнів вагітності.

Група 2А (порівняння) – спостереження передчасного дозрівання хоріального дерева без ЗДАВ при пологах у 33-36 тижнів вагітності.

Група 2Б (порівняння) – спостереження ЗДАВ у 33-36 тижнів вагітності, будова хоріального дерева відповідала терміну гестації.

Група 2В (порівняння) – спостереження без ЗДАВ у 33-36 тижнів вагітності, будова хоріального дерева відповідала терміну гестації.

Група контролю (фізіологічна вагітність) при пологах у 37-40 тижнів гестації.

Кількісний розподіл матеріалу за групами спостереження і терміном гестації подано у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Кількісний розподіл матеріалу за групами спостереження і терміном гестації

Групи дослідження	Кількість спостережень в групі (n)
Фізіологічна вагітність (37-40 тижнів гестації)	21
29-32 тижні гестації	
Основна група 1 – спостереження поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева	18
Група 1А (порівняння) – спостереження передчасного дозрівання хоріального дерева без ЗДАВ	19
Група 1Б (порівняння) – спостереження ЗДАВ, будова хоріального дерева відповідала терміну гестації	20
Група 1В (порівняння) – спостереження без ЗДАВ, будова хоріального дерева відповідає терміну гестації	21
33-36 тижнів гестації	
Основна група 2 – спостереження поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева	20
Група 2А (порівняння) – спостереження передчасного дозрівання хоріального дерева без ЗДАВ	22
Група 2Б (порівняння) – спостереження ЗДАВ, будова хоріального дерева відповідала терміну гестації	20
Група 2В (порівняння) – спостереження без ЗДАВ, будова хоріального дерева відповідає терміну гестації	21

ЗДАВ за своїм змістом є хронічною патологією, тому для валідності висновків у цьому дослідженні взяті до уваги тільки ті випадки, коли зазначена хвороба мала свій повний клінічний розвиток. Діагноз ЗДАВ підтверджувався на підставі як характерних змін еритроцитів периферичної крові вагітних, так і з урахуванням різноманітних вторинних змін у біохімічному складі крові вагітних, включно в системі гемостазу. Для визначення ступенів тяжкості ЗДАВ використана класифікація ВООЗ. I ступінь ЗДАВ відповідав зниженню концентрації гемоглобіну до 109-90 г/л, II ступінь – 89-70 г/л. Жінки з III ступенем (70-40 г/л) та IV (надтяжким, нижче за 40 г/л) ЗДАВ за досліджений період не бралися до уваги. У всіх без винятку вивчених спостереженнях анемія була гіпохромною. Розподіл спостережень передчасних пологів за термінами вагітності й ступенем тяжкості ЗДАВ представлений у таблиці 2.2. Ступінь тяжкості ЗДАВ надається станом на момент поступлення до стаціонару, але протягом вагітності тяжкість анемії могла бути іншою і могла змінюватися кілька разів.

Таблиця 2.2 – Передчасні пологи у терміни 29-32 і 33-36 тижнів вагітності і ступінь тяжкості залізодефіцитної анемії

Період гестації (тижні)	Клінічна характеристика періоду гестації	Всього (n)	Анемія I ст.	Анемія II ст.
29-32	Передчасні пологи	38	16	22
33-36	Передчасні пологи	40	22	18
Всього спостережень зі ЗДАВ		78	38	40
Загальна кількість спостережень (n)		182		

У терміні гестації 29-32 тижнів у вагітних як зі ЗДАВ, так і без (всього досліджено 78 плацент), причинами передчасних пологів згідно з опрацьованою документацією породіль стали: істміко-цервікальна

недостатність – 17 випадків (21,8%); одноплідна вагітність, яка настала внаслідок екстракорпорального запліднення – 2 випадки (2,6%); міоми матки – 6 випадків (7,7%); попередні пологи були передчасними (минуло не більше 15-18 тижнів від попередньої вагітності) – 7 випадків (8,9%); аборти в анамнезі – 16 випадків (20,5%); передчасне відшарування плаценти – 12 випадків (15,4%); дисбаланс статевих гормонів – 5 випадків (6,41%); емоційний стрес – 11 випадків (14,1%); гормональні порушення (недостатність щитоподібної залози) – 3 випадки (2,5%).

У терміні гестації 33-36 тижнів зі ЗДАВ і без анемії у вагітних (всього досліджено 83 плаценти) причинами передчасних пологів згідно з опрацьованою документацією породіль були: істміко-цервікальна недостатність – 17 випадків (20,1%); попередні пологи були передчасними (минуло не більше 15-18 тижнів від попередньої вагітності) – 10 випадків (12,5%); аборти в анамнезі – 14 випадків (16,9%); передчасне відшарування плаценти – 9 випадків (10,8%); перерозтягнення матки внаслідок багатоводдя – 2 випадки (2,3%); статевий акт на передодні пологів – 3 випадки (3,6%); аномалії прикріплення плаценти – 7 випадків (8,4%); інтенсивне, важке фізичне навантаження – 8 випадків (9,6%); емоційний стрес – 13 випадків (15,6%).

Визначення термінів гестації здійснено на підставі поєднання двох принципів: морфологічної стадійності розвитку хоріального дерева та клінічної належності матеріалу (передчасні пологи та строкові пологи). Терміни гестації подані рівномірно з представництвом кожного тижня гестації без жодного розриву. Групою контролю були спостереження фізіологічного перебігу вагітності та пологів у терміні гестації 37-40 тижнів.

З метою з'ясування можливого впливу ЗДАВ на структуру плаценти у вагітних із передчасним дозріванням хоріального дерева в термінах 29-32 та 33-36 тижнів гестації (основні групи спостереження) та окремо впливу ЗДАВ на послід при його нормальних темпах розвитку (групи порівняння 1Б – спостереження ЗДАВ, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації у 29-32 тижнів та група порівняння 2Б – спостереження ЗДАВ, коли

будова хоріального дерева відповідає терміну гестації у 33-36 тижнів вагітності), нами використовувався дисперсійний аналіз, який дозволяє статистично відокремити вплив одного досліджуваного фактора серед багатьох існуючих. Виходячи з цього, на попередньому етапі дослідження нами виключені спостереження, в яких були ознаки запалення посліду, інфекційні захворювання у вагітних, наявність цукрового діабету, ізоімунний конфлікт, аномалії розвитку посліду (екстрахоріальні, багаточасткові, плівчасті, вікончасті плаценти, аномалії пуповини чи оболонок), багатоплідна вагітність, вади розвитку плода. Для чистоти дослідження не включали також поєднання ЗДАВ та пізнього гестозу ЕРН (від «Edema», «Proteinuria», «Hypertensio»). У дослідження не включали плаценти породіль, хворих на ендокринну патологію, з поліорганною недостатністю, оскільки вказані патології самі собою можуть суттєво змінювати макроскопічні параметри та мікроскопічні особливості плаценти.

2.2 Методи дослідження

Морфологічні дослідження посліду виконувалися на органному, тканинному, клітинному та молекулярному (гістохімія, імуногістохімія) рівнях організації живої матерії з дотриманням принципів якісної та кількісної репрезентативності при ієрархічному переході від рівня до рівня.

Вивчення на органному рівні, окрім опису змін, передбачало визначення основних органометричних параметрів плаценти, пуповини та вільних плодових оболонок, оцінки варіанта прикріплення пуповини до плаценти, типу розгалуження судин хоріальної пластинки, описової характеристики материнської поверхні народженої плаценти з оцінкою особливостей будови котиledonів. При дослідженні плаценти визначали масу посліду (г), товщину (см), площу материнської поверхні (см²) визначали за допомогою прозорої сітки з рівновіддаленими крапками та об'єм кожної плаценти (см³) за кількістю витісненої рідини з мірного циліндру, з подальшим визначенням середніх

арифметичних показників. Для оцінки товщини плаценти користувались спеціальним консольним пристроєм, що дозволяє вимірювати з точністю до 0,01 см. Параметри товщини фіксували у 14 позиціях (з рівномірним представництвом центральних, парацентральных та периферичних відділів органу). На паралельних пластинчастих розрізах тканини плаценти стереометричним методом визначали питомий об'єм явно неробочих зон (інфарктів, кіст, великих кальцифікатів і відкладань фібриноїду).

Підготовку матеріалу до мікроскопічних досліджень здійснювали диференційовано – залежно від вимог конкретної методики. Частину матеріалу фіксували 48 годин у 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну, після чого проводили зневоднювання у висхідній батареї спиртів та парафінову заливку при температурі 64⁰С. На санному мікротомі виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм завтовшки. Після депарафінізації зрізів з оглядовою метою виконували забарвлення гематоксиліном-еозином, для ідентифікації фібрину та волокнистого компонента строми хромотропом-водним блакитним виконували забарвлення за методикою Н.З. Слінченка, гістохімічне визначення «кислих» та «основних» білків за Mikel Calvo, вільних аміногруп білків – за А. Yasuma та Т. Ichikava, методом азосполучення після термічної обробки зрізів у термостаті при 58⁰С визначали на заморожених зрізах ферментативну активність плацентарної лужної фосфатази [50, 121].

Іншу частину матеріалу для збереження цілісності певних антигенів та реактивних груп фіксували протягом 22-24 годин у 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну, після чого проводили прискорене зневоднювання у висхідній батареї спиртів та парафінову заливку при температурі 56⁰С. На таких зрізах ставили низку імуногістохімічних реакцій з моно- та поліклональними антитілами виробників DakoCytomation (Denmark-USA): на гормони плаценти – плацентарний лактоген (Polyclonal Rabbit Anti-Human Placental Lactogen), хоріонічний гонадотропін (Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin (hCG)); плацентарну лужну фосфатазу (Monoclonal Mouse Anti-Human Placental Alkaline Phosphatase, Clone 8A9);

фермент плаценти – 11 β -HSD-2 (Polyclonal Rabbit Anti-Human 11 β -HSD-2); на проапоптотичний протеїн Bax (Polyclonal Rabbit Anti-Human Bax); протиапоптотичний протеїн Bcl-2 (Monoclonal Mouse Anti-Human BCL2, Clone 124); проліферативний ядерний нуклеарний антиген Ki-67 (Monoclonal Mouse Anti-Human MIB-1); віментин (Mouse Anti-Human, clone V9). У зазначених імуногістохімічних методиках використовувалася полімерна система візуалізації антитіл з пероксидажною міткою та барвником діамінобензидином виробника DakoCytomation (Denmark-USA). Для гістохімічного (гістоферментного) визначення активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення використовували кріостатні гістологічні зрізи свіжої нефіксованої тканини плаценти [9]. При постановці імуногістохімічних та гістохімічних реакцій максимально дотримувалися стандартизації протоколу методики для всіх зрізів. Виконували негативні та позитивні контролю. За необхідності проводили дофарбування ядер гематоксиліном Майєра [9].

Дослідження ступеня обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти було проведено за допомогою нінгідриново-шифововської реакції на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava, результати якої були виміряні методом комп'ютерної мікроденситометрії. Особливістю цієї методики є те, що нею не виявляються приховані аміногрупи білків, а візуалізуються тільки вільні групи протеїнів. Кількісною мірою обмеженого протеолізу слугувала величина оптичної густини (від 0 – відсутність забарвлення, абсолютна прозорість, до 1 – максимальне забарвлення, абсолютна непрозорість), яку вимірювали у відносних одиницях оптичної густини на цифрових копіях монохромного зображення шляхом комп'ютерної мікроденситометрії за допомогою комп'ютерної програми ImageJ (версія 1.48v, вільна ліцензія, W.Rasband, National Institute of Health, USA, 2015) [184]. З метою об'єктивізації кількісних досліджень проводили комп'ютерну морфометрію об'єктів у гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних препаратах. Для цього спочатку отримували цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів за допомогою мікроскопа Delta

Optical Evolution 100 (планахроматичні об'єктиви) та цифрового фотоапарата Olympus SP550UZ при використанні різних об'єктивів мікроскопа залежно від цілей аналізу. Потім цифрові копії зображення аналізували з допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми ImageJ [184]. Зокрема, шляхом безповторного нумерування підраховували кількість певних типів хоріальних ворсинок плаценти, шляхом комп'ютерної мікроденситометрії визначали денситометричні параметри (оптичну густину забарвлення), шляхом комп'ютерної мікроспектрофотометрії встановлювали спектральні характеристики забарвлення (розкладання кольору об'єкта на три складові – червону, зелену, синю, з кількісною оцінкою кожної ділянки спектра), зокрема, з отриманням показника – коефіцієнту R/B, який визначався як просте ділення значення червоної частини спектру (R) до синьої (B). Конкретне застосування вказаних показників описано у відповідних розділах дисертації.

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали залежно від конкретного завдання певного фрагмента дослідження. Планування необхідної кількості спостережень у кожній групі дослідження визначали на підставі обрахунків достатньої кількості для конкретного застосованого статистичного метода при рівні чутливості – 0,80 та рівня значущості $p=0,05$.

Для параметричних даних застосовували попередню перевірку на нормальність розподілу за допомогою критерію Вілкі-Хана-Шاپіро. Для всіх вивчених статистичних вибірок згідно з цим критерієм гіпотеза про нормальність розподілу не відхилялася (при $p=0,05$), тому використовували параметричні методи статистичного аналізу, зокрема: непарний двобічний критерій Стюдента, а для аналізу кореляційних зв'язків застосовували бінарний лінійний кореляційний аналіз за Пірсоном.

Результати Розділу 2 викладені в статтях [18, 19, 21, 23, 25, 35, 186] та додатково відображені у патенті на корисну модель, галузевому нововведенні та раціоналізаторських пропозиціях [20, 22, 27, 32, 51, 52].

РОЗДІЛ 3

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРЕДЧАСНОГО ДОЗРІВАННЯ ВОРСИНЧАСТОГО ХОРІОНА У ВАГІТНИХ БЕЗ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ З ПОЛОГАМИ В ТЕРМІНІ ГЕСТАЦІЇ 29-32 ТА 33-36 ТИЖНІВ

У цьому розділі нами представлена патоморфологічна, в зокрема гісто- та імуногістохімічна характеристика передчасного дозрівання ворсинчастого хоріона у вагітних без залізодефіцитної анемії вагітних (ЗДАВ), в яких відбулися передчасні пологи в терміні гестації 29-32 і 33-36 тижнів. Вказана група була взята для дослідження з метою встановлення параметрів передчасного дозрівання без ЗДАВ та порівняння отриманих результатів з параметрами основної групи спостереження (передчасне дозрівання хоріального дерева у жінок на тлі ЗДАВ у термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів), а також встановлення можливої причини передчасного дозрівання ворсинчастого хоріона на підставі імуногістохімічного дослідження плацентарних гормонів (плацентарного лактогену, хоріонічного гонадотропіну), плацентарної лужної фосфатази, ферменту – 11β -HSD-2, про- та протиапоптотичного протеїну Вах і Bcl-2, індексу проліферативної активності Ki-67, віментину.

Передчасне дозрівання хоріального дерева реєструється при передчасних пологах у терміні вагітності 29-32 тижні з частотою близько 50%, а в терміні 33-36 тижнів – з частотою приблизно 33% [41, 143]. З урахуванням даних літератури, ми сформуваємо групи дослідження у відповідні терміни гестації.

3.1 Морфологічна та морфометрична характеристика хоріального дерева

Макроскопічне вивчення патології посліду включало оцінку варіанта прикріплення пуповини до плаценти, тип розгалуження судин хоріальної пластинки, описову характеристику материнської поверхні народженої плаценти з оцінкою особливостей будови котиледонів, візуальну оцінку вільних плодових оболонок. Подальше дослідження передбачало визначення основних органометричних параметрів плаценти.

Оболонки плодової частини плаценти та вільні оболонки були гладенькими, блискучими, сіро-рожевого кольору, без нашарувань та дефектів, пуповина без особливостей. Центральний тип прикріплення пуповини зафіксовано у 23 спостереженнях (56,1%), парацентральный – у 12 (29,3%), маргінальний – у 6 спостереженнях (14,6%). При визначенні типу розгалуження судин у хоріальній пластинці встановлено переважно розсипний (20 випадків – 48,8%) і проміжний (19 випадків – 46,3%), магістральний тип становив всього 2 випадки (4,9%).

В обидва терміни гестації плацента зберігала дископодібну форму в усіх спостереженнях, при паралельних пластинчастих розрізах тканина плаценти макроскопічно – без особливостей. Материнська поверхня більшості плацент в обидва терміни гестації характеризувалася чіткими межами між котиледонами. Візуально заглиблення борозен між котиледонами зафіксовані з 29-32 тижнів гестації, а в термін 33-36 тижнів вагітності вже були глибокі борозни між котиледонами плаценти (рис. 3.1).

Макроскопічно виявлялися незначні вогнища фібрину, поодинокі згортки крові та кальцинати у вигляді чітко відмежованих ущільнень білувато-сірого кольору, діаметр яких в середньому коливався від 1,0 мм до 1,4 мм.

Основні органометричні характеристики представлені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Органометричні просторові параметри плаценти при передчасному дозріванні хоріальних ворсин у термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів без залізодефіцитної анемії вагітних (середня арифметична $\pm$ похибка середньої арифметичної)

Групи дослідження	Маса плаценти (г)	Товщина плаценти (см)	Площа материнської поверхні (см ²)	Об'єм плаценти (см ³)
Фізіологічна вагітність (n=21)	486 $\pm$ 6,43	2,37 $\pm$ 0,052	212 $\pm$ 6,1	489,9 $\pm$ 6,3
29-32 тижні гестації				
Група 1А (порівняння) (n=19)	439 $\pm$ 4,0 pФВ $\leq$ 0,001 p2А $\leq$ 0,001	2,15 $\pm$ 0,057 pФВ=0,007 p2А=0,02	187 $\pm$ 3,4 pФВ=0,002 p2А $\leq$ 0,001	396 $\pm$ 9,0 pФВ $\leq$ 0,001 p2А $\leq$ 0,001
33-36 тижнів гестації				
Група 2А (порівняння) (n=22)	475 $\pm$ 5,2 pФВ $\leq$ 0,001	2,32 $\pm$ 0,041 pФВ $\geq$ 0,05	207 $\pm$ 2,7 pФВ $\geq$ 0,05	481 $\pm$ 9,4 pФВ $\geq$ 0,05

Примітка. p2А – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

Гістологічно в терміні гестації 29-32 тижні переважали термінальні та проміжні зрілі ворсинки. Термінальні ворсинки за розмірами були найдрібніші серед інших елементів хоріального дерева, містили строму з великою кількістю синусоїдально розширених капілярів. Епітелій представлений СТ.

У терміні гестації 33-36 тижнів термінальні «спеціалізовані» хоріальні ворсинки характеризувалися наявністю периферично розташованих капілярів у ділянках без'ядерних зон витонченого СТ. Строма термінальних «спеціалізованих» ворсинок була представлена щільно розташованими колагеновими волокнами. Капіляри термінальних «спеціалізованих» ворсинок набували вигляду синусоїдів. Зустрічався фібриноїд у вигляді переривчастого шару, який огортав ворсинку ззовні по всій площі.

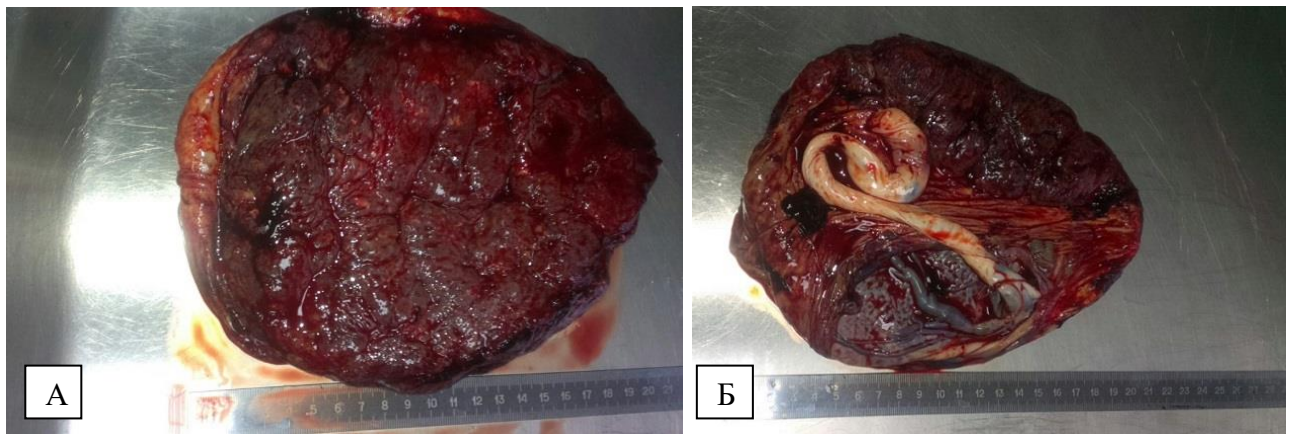


Рисунок 3.1 Макроскопічний вигляд плаценти в термін гестації 30 тижнів.

А – материнська поверхня плаценти; Б – плодова поверхня плаценти.

З метою об'єктивізації критеріїв оцінки ступеня зрілості ворсинчастого хоріону нами проведено морфометричне дослідження хоріального дерева при фізіологічній вагітності та при передчасних пологах у 29-32 та 33-36 тижнях гестації. У кожній плаценті у випадкових полях зору вивчали по 400 хоріальних ворсинок і класифікували їх згідно з критеріями [52, 53]. У результаті отримували відсоткове співвідношення між різними типами хоріальних ворсинок. Для кожної групи дослідження обраховували середнє арифметичне та його похибку. Статистичну обробку цифрового матеріалу здійснювали за допомогою двобічного непарного критерію Стюдента. Статистично значущими вважали розбіжності при $p \leq 0,05$.

Результати морфометричного дослідження хоріальних ворсинок у терміні гестації 29-32 та 33-36 тижнів подані в таблиці 3.2. Наведені результати свідчать, що в групах дослідження ступінь зрілості хоріального дерева не досягав рівня фізіологічної вагітності. Навіть при передчасному дозріванні сумарний відсоток зрілих хоріальних ворсинок становив для групи порівняння 1А – $91,0 \pm 0,98\%$. Статистична вірогідність розбіжності з фізіологічною вагітністю для обох вказаних груп дослідження значуща ($p < 0,05$).

Таблиця 3.2 – Відсоткове співвідношення різних типів хоріальних ворсинок у групах порівняння 1А та 2А у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів та у групі контролю (середня арифметична $\pm$ похибка середньої арифметичної)

	Термін гестації		
	29-32 тижні гестації	33-36 тижнів гестації	37-40 тижнів Гестації
Типи хоріальних ворсинок	Група 1А (порівняння) (n=19)	Група 2А (порівняння) (n=22)	Група контролю (n=21)
Стовбурові «ранні»	0,8 $\pm$ 0,03	0,1 $\pm$ 0,01	0,1 $\pm$ 0,01
Стовбурові «пізні»	3,4 $\pm$ 0,10	4,4 $\pm$ 0,10	4,0 $\pm$ 0,21
Трофобластичні та вільозні відростки	2,2 $\pm$ 0,09	1,4 $\pm$ 0,05	1,1 $\pm$ 0,04
Мезенхімальні	0,4 $\pm$ 0,01	0,4 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,02
Ембріональні	0,8 $\pm$ 0,02	0,8 $\pm$ 0,03	0,6 $\pm$ 0,02
Проміжні незрілі	4,8 $\pm$ 0,19	3,6 $\pm$ 0,16	3,0 $\pm$ 0,14
Проміжні зрілі	26,4 $\pm$ 0,58	15,8 $\pm$ 0,42	14,9 $\pm$ 0,83
Термінальні	55,4 $\pm$ 0,97	40,3 $\pm$ 0,71	38,4 $\pm$ 1,14
Термінальні «спеціалізовані»	5,8 $\pm$ 0,29	33,2 $\pm$ 0,68	37,5 $\pm$ 1,16

У цілому, для груп спостереження жінок без анемії та з морфологією передчасного дозрівання хоріального дерева у термін гестації 29-32 тижні властивим було збільшення сумарного відсотка термінальних і термінальних «спеціалізованих» ворсинок, зниження сумарного відсотка стовбурових ворсинок, зниження відсотка ембріональних ворсинок (рис. 3.2).

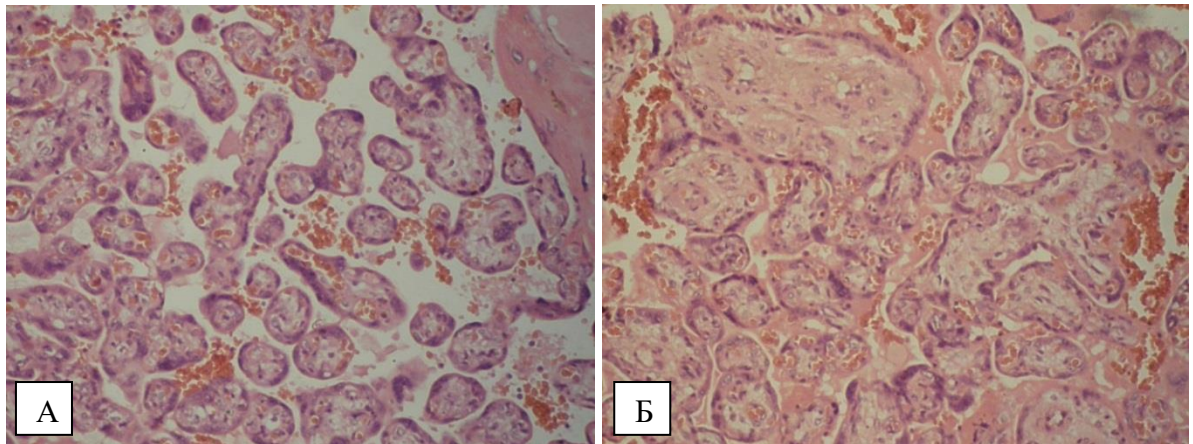


Рисунок 3.2 Передчасне дозрівання хоріальних ворсинок плаценти.

А – переважання термінальних ворсинок у 31 тиждень гестації;

Б – наявність проміжної зрілої та переважання термінальних ворсинок у 34 тижні гестації. Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Збільшення: Об.4^х. Ок.10^х

Сумарний відсоток зрілих типів хоріальних ворсинок для групи порівняння 2А становив $93,7 \pm 0,94\%$. При цьому розбіжність з фізіологічною вагітністю для групи порівняння 2А не є статистично значущою ($p > 0,05$), тобто у жінок без ЗДАВ та з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти у термін гестації 33-36 тижні морфологія хоріального дерева плаценти досягає у середньому рівня фізіологічної вагітності у 37-40 тижнів.

У цій групі дослідження спостерігалось зменшення відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок, в яких у порівнянні зі звичайними термінальними ворсинками більше капілярів, і розташовані вони в основному впритул до субепітеліальної базальної мембрани.

Сутність передчасного дозрівання хоріального дерева у термін гестації 33-36 тижні полягала переважно в зростанні сумарного відсотка ворсинок і відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок.

Описані зміни морфологічної картини хоріального дерева у жінок при передчасних пологах з передчасним дозріванням хоріону без ЗДАВ у 29-32 та 33-36 тижні гестації проілюстровані на рисунку 3.3.

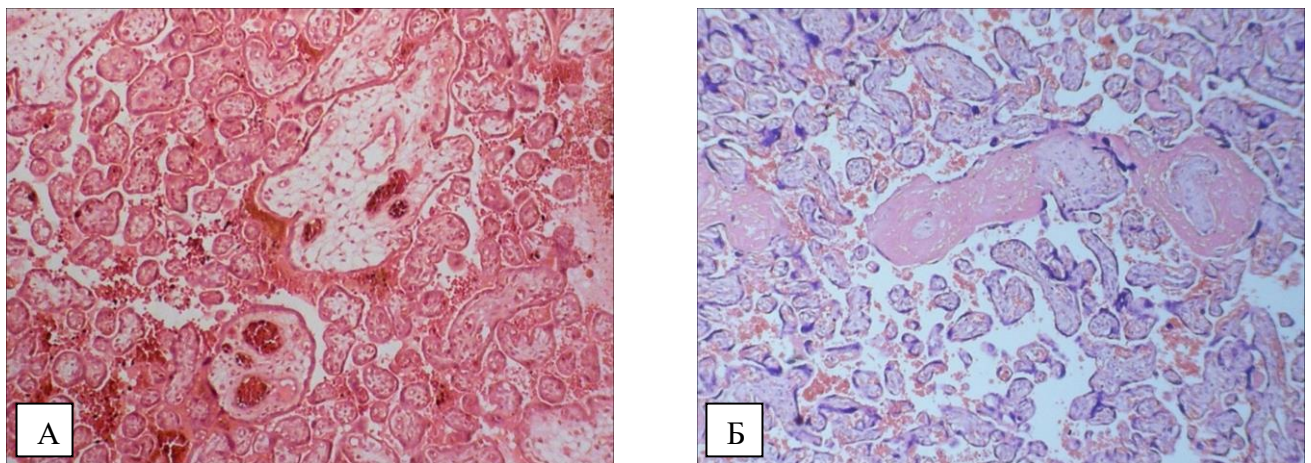


Рисунок 3.3 Передчасне дозрівання хоріальних ворсинок плаценти.

А – наявність термінальних ворсинок у 29 тижнів гестації;

Б – термінальні ворсинки у 34 тижні гестації.

Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення: Об.4^х. Ок.10^х

3.2 Імуногістохімічне дослідження плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок

З метою встановлення вмісту плацентарних гормонів (плацентарного лактогену та хоріонічного гонадотропіну) в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти нами було проведено імуногістохімічне дослідження.

Отримані результати оптичної густини імуногістохімічного забарвлення плацентарного лактогену у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти зазначені у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення плацентарного лактогену у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти (середня арифметична $\pm$ похибка середньої арифметичної)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,424 $\pm$ 0,0028
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	19	0,346 $\pm$ 0,0024 pФВ<0,001 p2А<0,001
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	22	0,369 $\pm$ 0,0028 pФВ<0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2А – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

Під час порівняння отриманих показників при фізіологічній вагітності та передчасних пологах з морфологією передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти без ЗДАВ виявлено закономірність щодо збільшення оптичної густини імуногістохімічного забарвлення гормону з перебігом вагітності, тобто встановлені вищі показники плацентарного лактогену в трофобласті хоріальних ворсинок у терміни гестації 33-36 тижнів порівняно з терміном 29-32 тижні.

Отримані результати демонструють, що передчасне морфологічне дозрівання хоріального дерева у жінок без анемії не супроводжувалося передчасним гормональним дозріванням, так як показники плацентарного лактогену були близькими до нормального дозрівання хоріального дерева.

Експресія плацентарного лактогену в хоріальних ворсинках плаценти у жінок із передчасним дозріванням плаценти без ЗДАВ проілюстрована на рисунку 3.4.

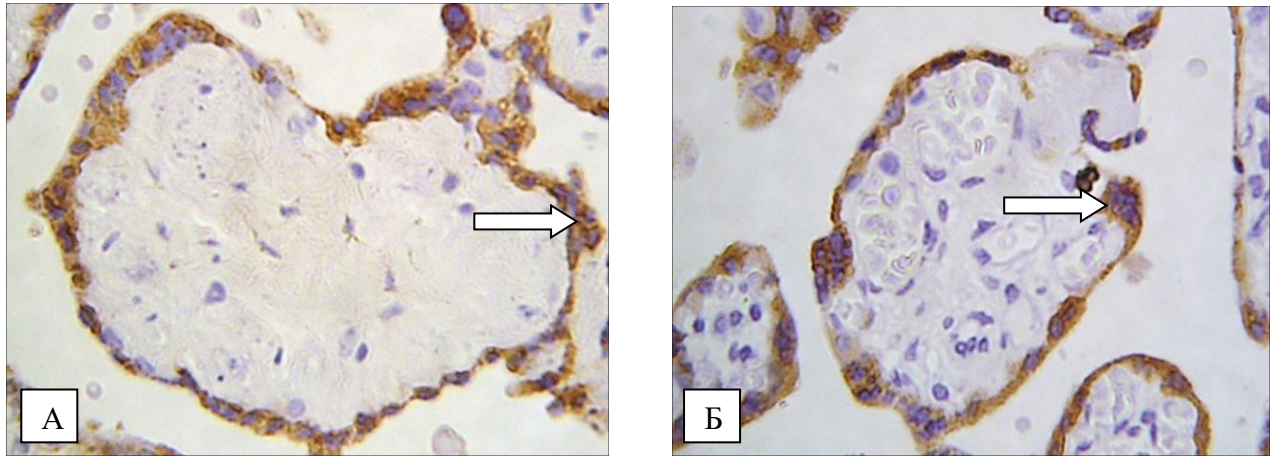


Рисунок 3.4 Експресія плацентарного лактогену в хоріальних ворсинках плаценти у жінок з передчасним дозріванням плаценти (А – 31 тиждень гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічне типкування первинними антитілами до плацентарного лактогену (Polyclonal Rabbit Anti-Human Placental Lactogen). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Що стосується експресії хоріонічного гонадотропіну у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти, нами отримано статистично достовірні вищі показники, ніж при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). У термін 29-32 тижні гестації оптична густина імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін вища, ніж у термін вагітності 33-36 тижнів.

Отримані результати оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти зазначені у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,214 \pm 0,0023$
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	19	$0,249 \pm 0,0023$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2А} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	22	$0,232 \pm 0,0024$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2А}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

Зображення експресії хоріонічного гонадотропіну в хоріальних ворсинках плаценти проілюстроване на рисунку 3.5.

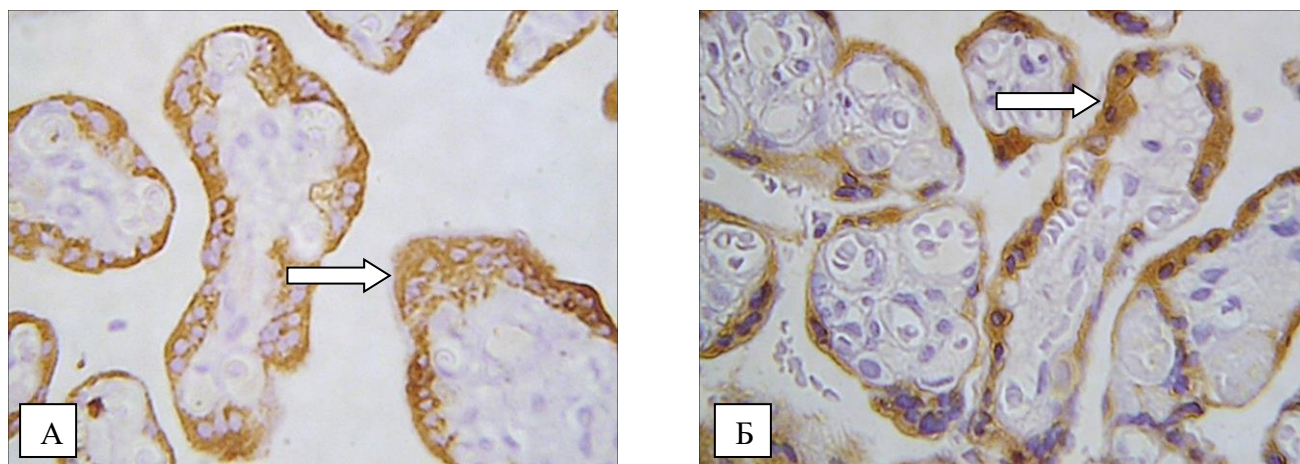


Рисунок 3.5 Експресія хоріонічного гонадотропіну в хоріальних ворсинках плаценти у жінок з передчасним дозріванням плаценти (А – 30 тиждень гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічне типування первинними антитілами до хоріонічного гонадотропіну (Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin (hCG). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

3.3 Гістохімічне та імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази

Плацентарна лужна фосфатаза як імуногістохімічним методом, так і гістохімічним методом визначалася у трофобласті хоріальних ворсинок.

Кількісні показники плацентарної лужної фосфатази в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок представлені в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні плацентарної лужної фосфатази ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,348 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	19	$0,186 \pm 0,0015$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$ $p_{2A} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	22	$0,204 \pm 0,0016$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$

Примітка. $p_{\text{ФВ}}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p_{2A} – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

Згідно з наведеними у таблиці 3.5 даними показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок при фізіологічній вагітності були значно більшими, ніж при передчасних пологах навіть з морфологією передчасного дозрівання хоріального дерева ($p < 0,001$).

При порівнянні між собою результатів двох термінів гестації можна зробити висновок, що в цілому спостерігалася тенденція до зростання оптичної густини імуногістохімічного забарвлення в трофобласті хоріальних ворсинок зі збільшенням терміну гестації. Таким чином, показники плацентарної лужної фосфатази вільозного трофобласта можуть віддзеркалювати ступінь дозрівання хоріального дерева плаценти.

Експресія плацентарної лужної фосфатази в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням плаценти представлена на рисунку 3.6.

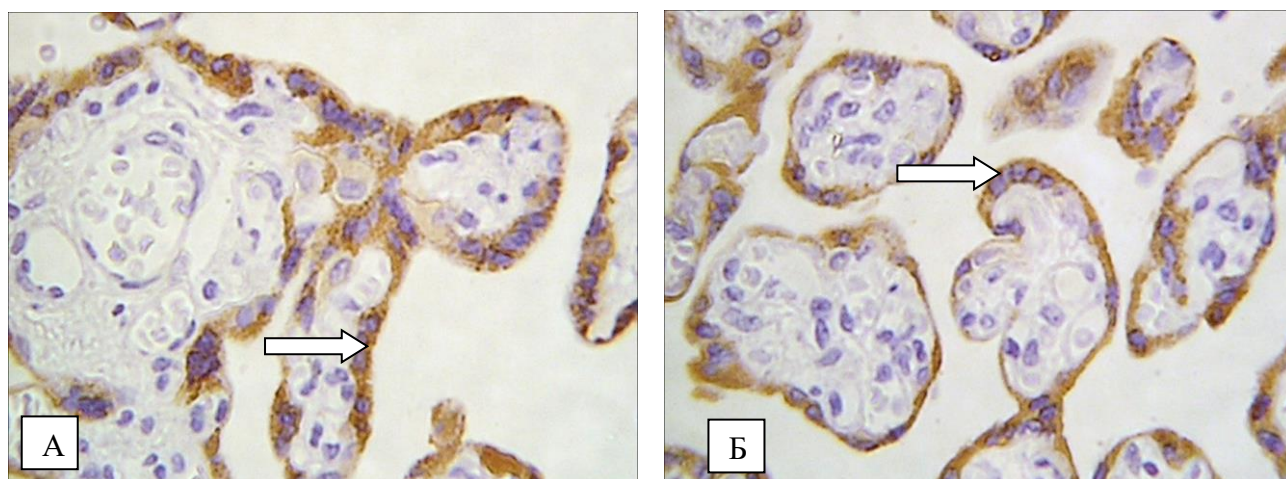


Рисунок 3.6 Експресія плацентарної лужної фосфатази в хоріальних ворсинках плаценти у жінок з передчасним дозріванням плаценти (А – 29 тиждень гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з моноклональними антитілами (Clone 8A9) та забарвленням ядер гематоксиліном Майєра. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Дані про оптичну густину імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення наведені у таблиці 3.6.

Таблиця 3.6 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,234 \pm 0,0013$
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	19	$0,125 \pm 0,0014$ $p_{FB} < 0,001$ $p_{2A} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	22	$0,178 \pm 0,0011$ $p_{FB} < 0,001$

Примітка. p_{FB} – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p_{2A} – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

З наведених даних видно, що найбільший показник оптичної густини забарвлення при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази відзначався при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Зберігалася закономірність зростання активності специфічного білка – плацентарної лужної фосфатази – зі збільшенням терміну гестації.

У термін гестації 29-32 тижні активність плацентарної лужної фосфатази в трофобласті ХВ не корелювала з показниками її імуногістохімічного забарвлення. Ми дійшли висновку, що активність специфічного білка – плацентарної лужної фосфатази зростає з плином вагітності, а також, що між кількісними та якісними показниками білка не завжди є кореляційний взаємозв'язок. Потрібно зазначити, що у термін 33-36 тижнів вагітності зростала активність плацентарної лужної фосфатази, що відповідало збільшенню її імуногістохімічного забарвлення. Забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази проілюстроване на рисунку 3.7.

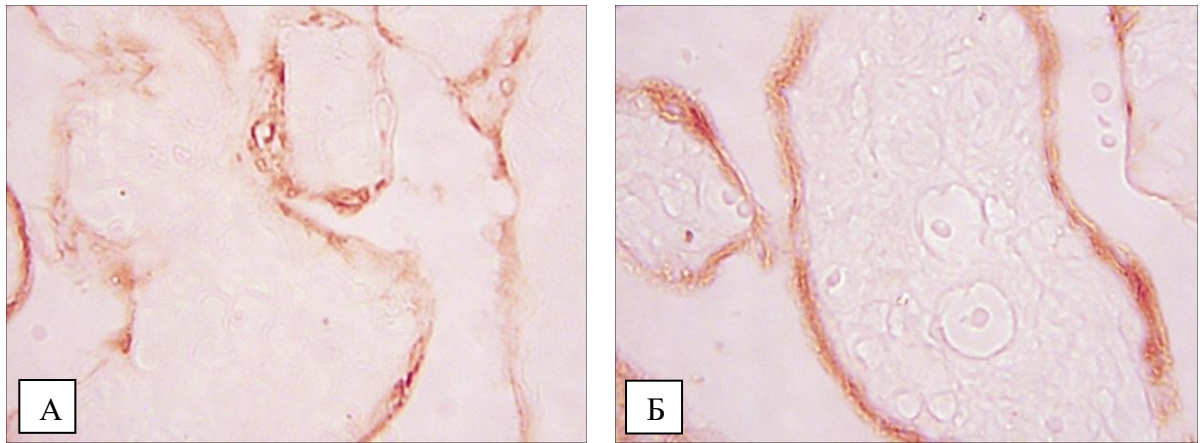


Рисунок 3.7 Зростання ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок у жінок з передчасним дозріванням плаценти зі збільшенням терміну гестації (А – 31 тиждень гестації; Б – 34 тижні гестації). Гістохімічна методика методом азосполучення. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

3.4 Імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11 β -HSD-2) в синцитіотрофобласті

На сьогодні одним із найбільш обґрунтованих молекулярних механізмів природної стимуляції пологів є зростання кількості та активності в плаценті ферменту 11 β -HSD-2. Цей механізм веде до підсиленої скоротливої діяльності матки та розкриття шийки матки [230]. З метою встановлення можливого впливу на механізми передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти та передчасних пологів нами було проведене імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11 β -HSD-2) в СТ хоріальних ворсинок плаценти у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів. Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення 11 β -HSD-2 у групах жінок з передчасним дозріванням хоріального дерева без анемії в обох вивчених термінах гестації перевищували показники ферменту в групі з фізіологічним плином вагітності. У термін гестації 33-36 тижнів показник оптичної густини імуногістохімічного забарвлення 11 β -HSD-2 був дещо вищий порівняно з показниками 11 β -HSD-2 у термін гестації в 29-32 тижні (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,285 \pm 0,0012$
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	19	$0,288 \pm 0,0015$ $p_{\text{ФВ}} > 0,05$ $p_{2A} > 0,05$
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	22	$0,292 \pm 0,0016$ $p_{\text{ФВ}} > 0,05$

Примітка. $p_{\text{ФВ}}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p_{2A} – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

Експресія ферменту 11β -HSD-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти в термінах гестації 29-32 і 33-36 тижнів представлена на рисунку 3.8.

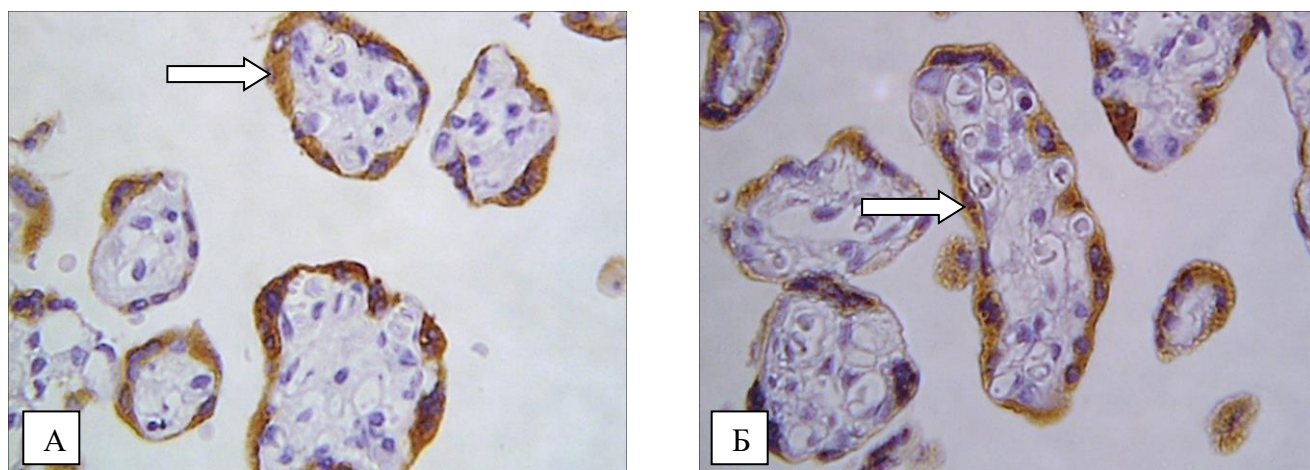


Рисунок 3.8 Експресія ферменту 11β -HSD-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти у жінок з передчасним дозріванням (А – 29 тиждень гестації; Б – 36 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням Polyclonal Rabbit Anti-Human 11β -HSD-2 з дозабарвленням гематоксиліном Майєра.

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

3.5 Дослідження експресії віментину в структурах ворсинок

Вважається, що порушення процесів васкулогенезу і ангиогенезу плаценти призводять до ПН [259, 260], а також, що віментин є компонентом цитоскелету, відповідальним за підтримку цілісності клітин. Віментин відіграє роль у підтримці та закріпленні положення органел у цитозолі [153]. Науковці вважають дослідження експресії віментину судинного русла трофобласта цінним інструментом для вивчення ПН [249]. Дослідження експресії віментину є зручним молекулярним фактором зрілості клітин та дає змогу оцінити активність ангиогенезу в тканині та прогнозувати розвиток судинної системи [5]. Нами було досліджено оптичну густину імуногістохімічного забарвлення віментину у фібробластах та ендотеліоцитах строми хоріальних ворсинок плаценти.

Оптичну густину імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням плаценти представлено в таблиці 3.8.

Таблиця 3.8 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,244 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	19	$0,176 \pm 0,0014$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$ $p_{2A} < 0,001$
33-36 тижні гестації		
Група 2А (порівняння)	22	$0,202 \pm 0,0015$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$

Примітка. $p_{\text{ФВ}}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p_{2A} – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

Виходячи з отриманих результатів (табл. 3.8) дослідження передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти у жінок без ЗДАВ, значення оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах не досягало рівнів, характерних для фізіологічної вагітності ($p < 0,001$). Крім того, у термін гестації 33-36 тижнів оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин була вищою порівнянно з терміном 29-32 тижні ($p < 0,001$).

Що стосується визначення оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин в ендотеліюцитах, то отримані результати також продемонстрували нижчі порівняно з фізіологічною вагітністю показники ($p < 0,001$). У термін гестації 33-36 тижнів оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин була вищою порівнянно з терміном 29-32 тижні ($p < 0,001$).

Отримані результати наведені у таблиці 3.9.

Таблиця 3.9 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин в ендотелії хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,448 \pm 0,0029$
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	19	$0,348 \pm 0,0028$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{1А} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	22	$0,385 \pm 0,0028$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. рФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; р2А – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

Зображення експресії віментину у фібробластах та ендотелії хоріальних ворсинок плаценти проілюстроване на рисунку 3.9.

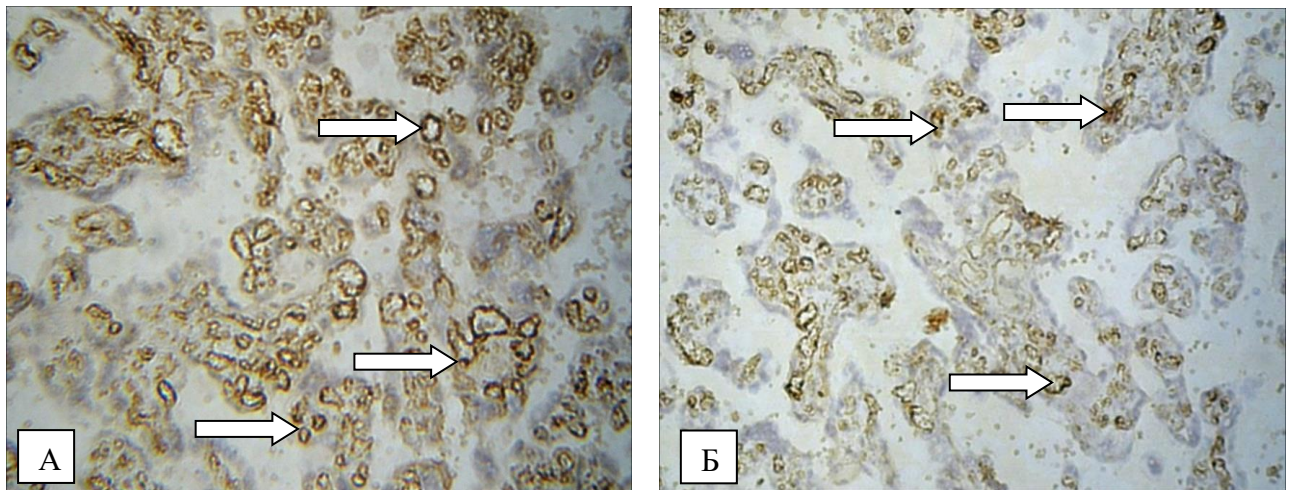


Рисунок 3.9 Експресія віментину у фібробластах та ендотелії хоріальних ворсинок плаценти з передчасним дозріванням (А – 31 тиждень гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням моноклональних антитіл (clone V9). Збільшення: Об.20^x, Ок.10^x

3.6 Дослідження обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти

Дослідження ступеня обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти було проведено за допомогою нінгідриново-шиффововської реакції на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava, результати якої були виміряні методом комп'ютерної мікроденситометрії. Вказана гістохімічна методика самими авторами використовувалася для визначення загального білка в певних структурах, оскільки стехіометрично дозволяла виявляти аміногрупи білків. Однак пізніше з'ясувалося, що особливістю цієї методики є те, що нею не виявляються приховані аміногрупи білків, а візуалізуються тільки вільні групи протеїнів. Отже, ця методика показує не тільки загальну кількість білка, а й кількість неприхованих (вільних) аміногруп білків. Варто зазначити, що при завершеному протеолізі ця методика не є ефективною, бо відбувається руйнування білків до розчинних амінокислот, отже, гістохімічно їх виявити є неможливо, оскільки розчинні амінокислоти вимиваються в розчинах у процесі виготовлення мікропрепаратів. Однак якщо виникає втрата білками більш високого ступеня структурної організації (денатурація білків), то приховані аміногрупи білків стають вільними – доступними для окиснення нінгідрином. Отже, якщо загальна кількість білка не змінюється, а забарвлення в нінгідриново-шиффововській реакції зростає, це свідчить про денатурацію білків. На сьогодні відомо, що цей процес має контрольований характер, а сам контроль здійснюється певними ферментами, тому такий процес отримав назву обмежений протеоліз. Біологічне значення обмеженого протеолізу полягає в тому, що він призводить до того, що, незважаючи на достатню кількість білка (це може бути показано, наприклад, за допомогою методики з бромфеноловим синім за Бонхегом), протеїн втрачає здатність виконувати свої функції. Це стосується як білків-ферментів, так і структурних білків або сигнальних молекул протеїнової природи чи гормонів.

Таким чином, гістохімічне визначення обмеженого протеолізу є одним із тонких методів встановлення однієї з форм альтерації структур [120, 143].

Кількісною мірою обмеженого протеолізу слугувала величина оптичної густини (від 0 – відсутність забарвлення, абсолютна прозорість, до 1 – максимальне забарвлення, абсолютна непрозорість), яку вимірювали у відносних одиницях оптичної густини на цифрових копіях монохромного зображення шляхом комп'ютерної мікроденситометрії за допомогою комп'ютерної програми ImageJ (версія 1.48v, вільна ліцензія, W.Rasband, National Institute of Health, USA, 2015) [184].

Дані про отримані усереднені величини оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти наведені у таблиці 3.10.

Таблиця 3.10 – Оптична густина гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,164 \pm 0,0014$
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	19	$0,202 \pm 0,0016$ $p_{FB} < 0,001$ $p_{2A} > 0,05$
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	22	$0,204 \pm 0,0017$ $p_{FB} < 0,001$

Примітка. p_{FB} – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p_{2A} – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

З поданих даних видно, що середні показники оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків для обох термінів вагітності перевищують показник при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Однак показники оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa між двома періодами вагітності статистично не відрізнялися між собою ($p > 0,05$). Наведені дані вказують на те, що при передчасному дозріванні хоріального дерева в трофобласті хоріальних ворсинок зростають процеси обмеженого протеолізу, тобто відзначається альтерація трофобласта, яку не видно при застосуванні забарвлення гематоксилином та еозином.

Зображення гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти проілюстроване на рисунку 3.10.

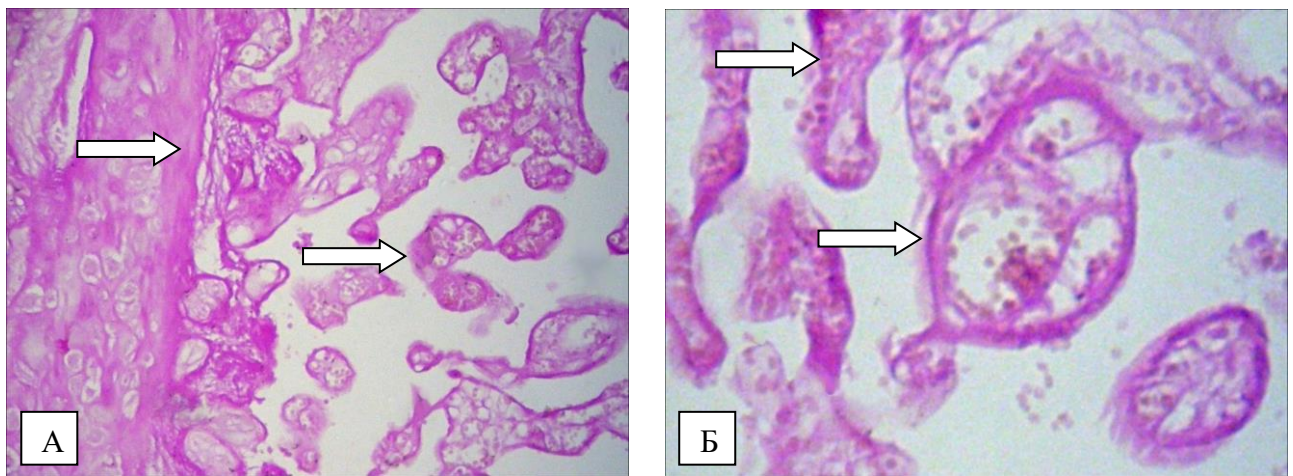


Рисунок 3.10 Експресія вільних аміногруп білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з передчасним дозріванням (А – 32 тиждень гестації; Б – 34 тиждень гестації). Нінгідриново-шиффовська гістохімічна реакція за А. Yasuma та Т. Ichikawa на вільні аміногрупи білків.

Збільшення: А – Об.10^х, Ок.10^х; Б – Об.40^х, Ок.10^х

3.7 Дослідження окиснювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти

Нами проведене дослідження процесів ОМБ у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти у різні терміни гестації. Метою згаданого дослідження було виявити різновид альтерації структур, механізм якого пов'язаний з зростанням рівня вільно радикальних процесів. Застосована методика комп'ютерної мікроспектрофотометрії гістологічних препаратів, які були забарвлені бромфеноловим синім за методом Mikel Calvo [50]. Кількісним показником слугував спектрометричний коефіцієнт R/B. Середні дані цього показника наведені у таблиці 3.11.

Таблиця 3.11 – Коефіцієнт R/B при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo у трофобласті хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Коефіцієнт R/B при забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo
Фізіологічна вагітність	21	1,02±0,012
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	20	1,15±0,015 pФВ<0,001 p2А>0,05
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	20	1,16±0,018 pФВ<0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2А – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

З представлених результатів видно, що середні показники коефіцієнта R/B при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo для обох термінів вагітності перевищували дані, які ми отримали при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$); при цьому показники на двох термінах вагітності статистично не відрізнялися між собою ($p > 0,05$).

Отримані результати вказують на те, що при передчасному дозріванні хоріального дерева відбувається альтерація трофобласта, яка розвивається за механізмом вільнорадикального ушкодження. Результати забарвлення методикою за Mikel Calvo на виявлення «кислих» та «основних» білків при гістохімічному дослідженні представлені на рисунку 3.11.

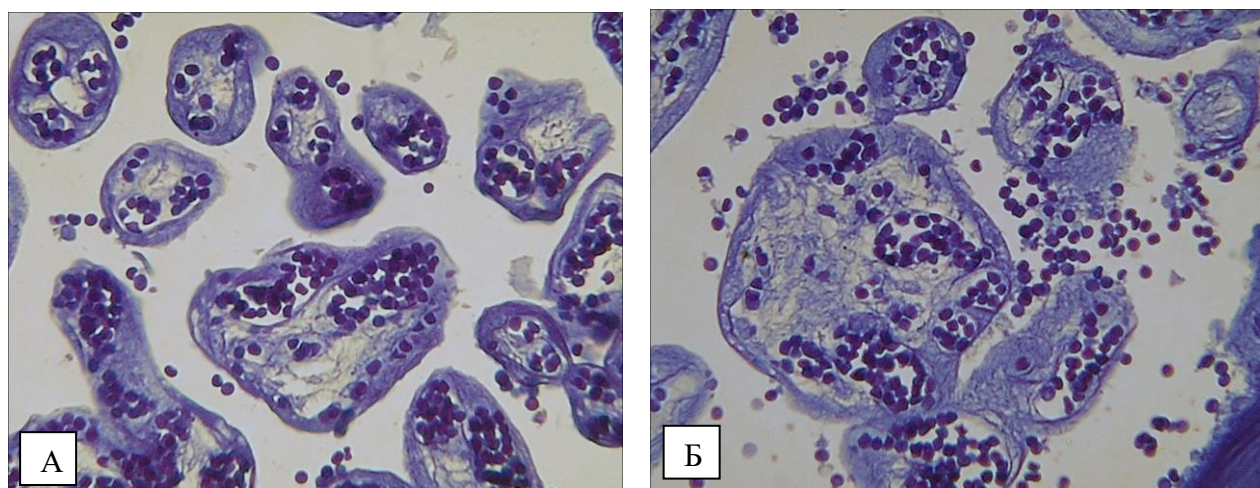


Рисунок 3.11 Хоріальне дерево з передчасним дозріванням хоріальних ворсинок, переважання «основних» білків над «кислими» (А – 29 тижнів гестації; Б – 34 тижнів гестації). Гістохімічна реакція на «кислі» та «основні» білки бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

3.8 Дослідження регуляції проліферативної активності та відмирання трофобласта

За даними літератури відомо, що при ушкодженні поверхні трофобласта у ньому відбувається стимуляція проліферативних процесів [120, 143]. Попередні результати нашого дослідження вказали на наявність альтерації поверхні трофобласта при передчасному дозріванні хоріальних ворсинок плаценти. Попередньо виконували перевірку на нормальність розподілу у вибірках методом Shapiro-Wilki за допомогою цієї ж комп'ютерної програми. Статистично значущими вважали розбіжності при $p \leq 0,05$.

Отримані результати зазначені в таблиці 3.12.

Таблиця 3.12 – Кі-67-позитивні ядра в трофобласті хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Кі-67-позитивні ядра в трофобласті хоріальних ворсинок (‰)
Фізіологічна вагітність	21	$3 \pm 0,1$
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	20	$32 \pm 1,1$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2А} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	20	$24 \pm 1,0$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2А}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

Отримані зображення Кі-67-позитивних ядер у трофобласті хоріальних ворсинок в обох термінах вагітності проілюстровані на рисунку 3.12.

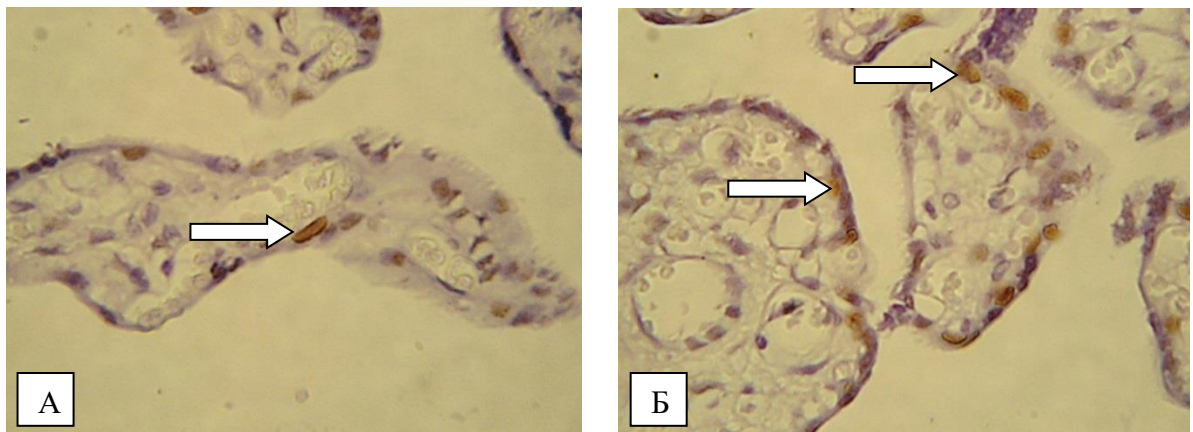


Рисунок 3.12 Проліферативна активність трофобласта хоріального дерева при передчасному його дозріванні (А – 30 тижнів гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічне дослідження експресії маркера проліферуючих клітин Кі-67. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

При передчасному дозріванні хоріального дерева, коли в жінок не було встановлено змін у крові, які би вказували на анемію, встановлені показники Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок плаценти, які значно перевищують показники при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$).

Отримані результати підкреслюють, що передчасне дозрівання хоріальних ворсинок плаценти характеризується високою проліферативною активністю незалежно від терміну вагітності. Така проліферативна активність трофобласта хоріального дерева плаценти, найімовірніше, виникає на тлі ушкодження поверхні трофобласта хоріального дерева плаценти. Виникає компенсаторно-приспосувальний механізм. При порівнянні показників Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок у два досліджені періоди гестації виявлено що, в термін 29-32 тижні гестації показник Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок вищий, ніж у термін гестації 33-36 тижнів ($p < 0,001$).

Противапоптотичний білок Bcl-2 відіграє важливу роль у протистоянні апоптотичним факторам. У спеціальних експериментах показано, що, окрім властивостей зв'язувати протеїн Вах, Bcl-2 має також протиоксидантні властивості [101].

Середні показники імуногістохімічного дослідження оптичної густини антигену противапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок для обох термінів спостереження зазначені в таблиці 3.13.

Таблиця 3.13 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,326 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	20	$0,322 \pm 0,0015$ $p_{ФВ} > 0,05$ $p_{1А} > 0,05$
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	20	$0,328 \pm 0,0014$ $p_{ФВ} > 0,05$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2А}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

Як видно з таблиці, в обох групах спостереження не було знайдено розбіжностей у середніх показниках оптичної густини імуногістохімічного забарвлення протеїну Bcl-2 стосовно фізіологічної вагітності ($p > 0,05$). Відомо, що діяльність протеїну Bcl-2 контролюється в клітині відповідними генами [203]. Ми отримали результати, які показують, що не відбувається збільшення продукції протеїну Bcl-2 при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти.

Експресія протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок представлена на рисунку 3.13.

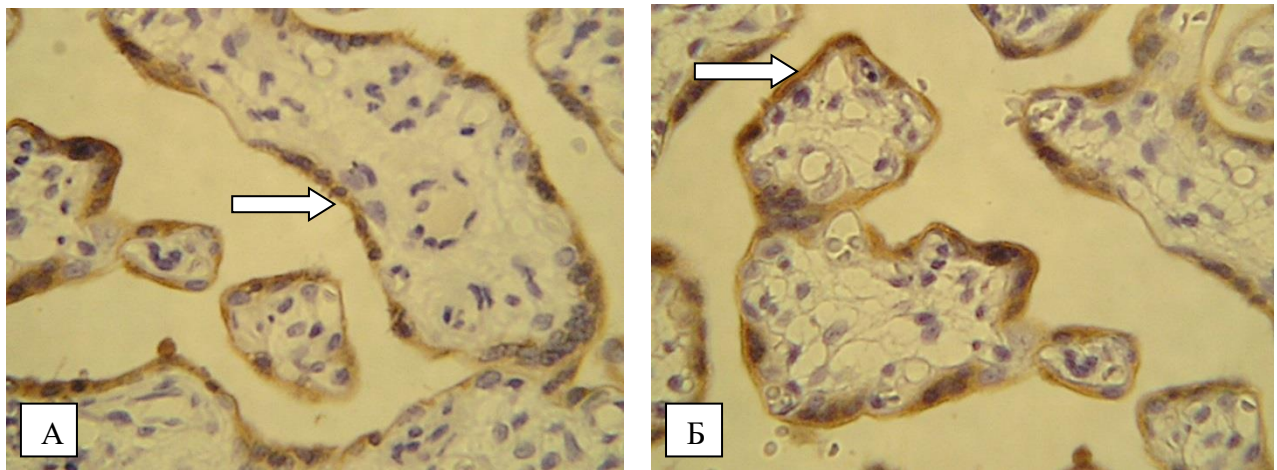


Рисунок 3.13 Експресія протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням плаценти (А – 29 тижнів гестації; Б – 33 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика зі застосуванням антитіл протиапоптотичного протеїну Bcl-2 (Clone 124). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Отримані дані щодо оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний протеїн Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок наведені у таблиці 3.14.

Таблиця 3.14 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний протеїн Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок (M ± m)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,264±0,0015
29-32 тижні гестації		
Група 1А (порівняння)	20	0,329±0,0014 pФВ<0,001 p2А<0,001
33-36 тижнів гестації		
Група 2А (порівняння)	20	0,351±0,0014 pФВ<0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2А – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1А з групою порівняння 2А.

Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний протеїн Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок у групах спостереження при передчасному дозріванні плаценти є статистично достовірними ($p < 0,001$). Зростання рівня протеїну Вах вказує на те, що створюються умови для інтенсифікації процесів Вах-залежного апоптозу в трофобласті. Варто зазначити, що зростання рівня протеїну Вах відбувається на фоні відсутності змін зі сторони протеїну Bcl-2 (який є антагоністом протеїну Вах), що дає ще більше підстав для висновку про створення умов для інтенсифікації Вах-залежного апоптозу в трофобласті хоріальних ворсинок.

Експресія протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок проілюстрована на рисунку 3.14.

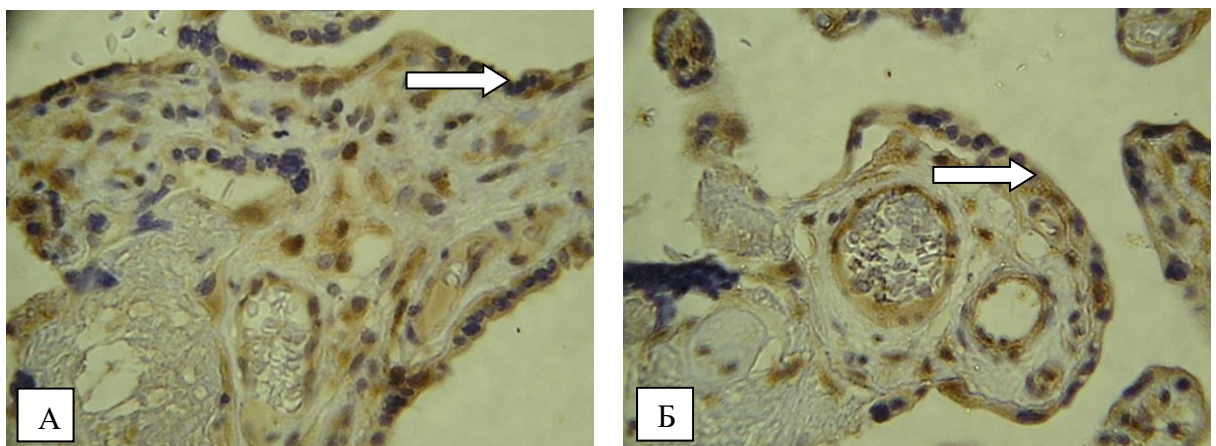


Рисунок 3.14 Експресія протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням плаценти (А – 31 тиждень вагітності; Б – 34 тижні вагітності). Імуногістохімічне типування зі застосуванням антитіл проапоптотичного протеїну Вах (Polyclonal Rabbit Anti-Human Bax).

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Резюме

Проведене органометричне, гістологічне, гістохімічне та імуногістохімічне дослідження передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти у два терміни гестації – 29-32 та 33-36 тижнів у жінок без

залізодефіцитної анемії вагітних. Проведені дослідження показали, що при передчасних пологах, морфологічно діагностується передчасне дозрівання хоріального дерева. В термін гестації 29-32 тижнів це проявляється збільшенням сумарного відсотка термінальних і термінальних «спеціалізованих» ворсинок, зниженням сумарного відсотка стовбурових ворсинок, зниженням відсотка ембріональних ворсинок. Сумарний відсоток зрілих типів хоріальних ворсинок становив $91,0 \pm 0,98\%$. У термін гестації 33-36 тижнів передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти характеризується подальшим зростанням сумарного відсотка ворсинок і відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок, причому сумарний відсоток зрілих типів хоріальних ворсинок дорівнював $93,7 \pm 0,94\%$. Встановлено, що показники плацентарного лактогену трофобласта хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти є парадоксально низькими ($p < 0,001$). Таким чином, передчасне морфологічне дозрівання хоріального дерева не супроводжується передчасним гормональним дозріванням відносно продукції плацентарного лактогену. Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін трофобласта хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням характеризується показниками, які більші ніж при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Водночас зберігається закономірність, що в термін 29-32 тижні гестації показники хоріонічного гонадотропіну трофобласта хоріальних ворсинок вищі, ніж у термін 33-36 тижнів. Отримані результати дослідження плацентарної лужної фосфатази демонструють, що показники плацентарної лужної фосфатази в обох групах порівняння є суттєво нижчими, ніж при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Спостерігається тенденція до зростання плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок зі збільшенням терміну гестації. Таким чином, показники плацентарної лужної фосфатази трофобласта віддзеркалюють ступінь дозрівання хоріального дерева плаценти. Із плином вагітності простежувалася закономірність зростання активності плацентарної лужної фосфатази. У термін гестації 29-32 тижні активність плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок

не корелювала з її показниками оптичної густини імуногістохімічного забарвлення. Вважаємо, що активність специфічного білка – плацентарної лужної фосфатази – зростає з плином вагітності, а між кількісними та якісними показниками білка існує взаємозв'язок у пізні терміни гестації. У термін 33-36 тижнів зростає активність плацентарної лужної фосфатази, що відображається у збільшенні її оптичної густини імуногістохімічного забарвлення.

Показники 11 β -HSD-2 (ферменту, який є ключовим у молекулярному механізмі природної стимуляції пологів) у групах жінок з передчасним дозріванням хоріального дерева без анемії в обох вивчених термінах гестації перевищували показники ферменту в групі контролю. У термін гестації 33-36 тижнів показник оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на 11 β -HSD-2 був дещо вищий порівняно з показником 11 β -HSD-2 у термін гестації в 29-32 тижні. Розцінюємо отримані дані як одну з можливих причин виникнення передчасних пологів у жінок в терміні гестації 29-32 та 33-36 тижнів. Імуногістохімічне дослідження на віментин у фібробластах показало, що оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин не досягає рівнів, характерних для фізіологічної вагітності ($p < 0,001$). Проте у термін гестації 33-36 тижнів показники віментину є вищими порівняно з терміном 29-32 тижні. Результати дослідження віментину в ендотеліюцитах демонструють також нижчі показники порівняно з фізіологічною вагітністю ($p < 0,001$). Таким чином, передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти характеризується низькими показниками віментину, який є молекулярним фактором зрілості клітин та дає можливість оцінити активність ангіогенезу в тканині і прогнозувати розвиток патології судинної системи посліду та ПН загалом.

Дослідження ступеня обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти при передчасному дозріванні вказало на зростання процесів обмеженого протеолізу, тобто відзначається альтерація трофобласта, яку неможливо діагностувати при застосуванні забарвлення гематоксиліном та еозином. При гістохімічному дослідженні «кислих» та «основних» білків за Mikel Calvo середні показники коефіцієнта R/V для обох

термінів вагітності при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти перевищували дані фізіологічної вагітності ($p < 0,001$). Отже, при передчасному дозріванні хоріального дерева відбувається альтерація трофобласта, яка розвивається за механізмом вільнорадикального ушкодження.

При передчасному дозріванні хоріального дерева, коли в жінок не було встановлено змін у крові, які би вказували на залізодефіцитну анемію, встановлено показники Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок, які значно перевищують показник при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Таким чином, передчасне дозрівання хоріальних ворсинок плаценти характеризується високою проліферативною активністю незалежно від терміну вагітності. Така проліферативна активність трофобласта хоріального дерева плаценти виникає на тлі ушкодження поверхні трофобласта хоріального дерева плаценти. При передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти не відбувається збільшення продукції протеїну Bcl-2. Цей факт можна пояснити тим, що при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти не відбувається активізація відповідних генів, які контролюють діяльність протеїну Bcl-2. При передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти зростає експресія проапоптотичного протеїну Вах в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($p < 0,001$). Таке зростання рівня протеїну Вах вказує на те, що створюються умови для інтенсифікації процесів Вах-залежного апоптозу в трофобласті. Варто зазначити, що зростання рівня протеїну Вах відбувається на фоні відсутності змін зі сторони протеїну Bcl-2 (який є антагоністом протеїну Вах), що дає ще більше підстав для висновку про створення умов для інтенсифікації Вах-залежного апоптозу в трофобласті хоріальних ворсинок.

Основні положення викладеного вище розділу відображені у статтях [18, 19, 21, 23, 25, 35, 186], апробовані на наукових форумах [24, 28, 30, 31, 34, 239], додатково відображені у патенті на корисну модель та раціоналізаторських пропозиціях [20, 22, 27, 32, 52].

РОЗДІЛ 4

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРЕДЧАСНОГО ДОЗРІВАННЯ ВОРСИНЧАСТОГО ХОРІОНА У ВАГІТНИХ ІЗ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЮ АНЕМІЄЮ З ПОЛОГАМИ В ТЕРМІНІ ГЕСТАЦІЇ 29-32 ТА 33-36 ТИЖНІВ

У цьому розділі нами представлена патоморфологічна (гісто- та імуногістохімічна) характеристика передчасного дозрівання ворсинчастого хоріона у жінок із залізодефіцитною анемією вагітних (ЗДАВ), у яких відбулися передчасні пологи в терміні гестації 29-32 і 33-36 тижнів. Групи спостереження передчасного дозрівання ворсинчастого хоріону в жінок на тлі ЗДАВ у терміні гестації 29-32 та 33-36 тижнів були нашими основними групами дослідження. Передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти діагностується за збільшенням відсотка зрілих форм хоріальних ворсинок у порівнянні з гестаційною нормою й відзначається при передчасних пологах [53]. Передчасне дозрівання хоріального дерева є причиною виникнення ХПН, оскільки може виникати невідповідність між потребами плода та можливістю плаценти забезпечити ці потреби [38, 138]. Вплив ЗДАВ на морфологічну картину передчасного дозрівання плаценти не був вивчений досі.

Наші дослідження скеровані на вдосконалення діагностики передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при ЗДАВ на підставі імуногістохімічного дослідження плацентарних гормонів (плацентарного лактогену, хоріонічного гонадотропіну), плацентарної лужної фосфатази ферменту – 11 β -HSD-2, проапоптотичного протеїну Вах, протиапоптотичного протеїну Bcl-2, проліферативного ядерного нуклеарного антигену Ki-67, віментину.

4.1 Морфологічна та морфометрична характеристика хоріального дерева

Макроскопічний опис посліду включав описову характеристику материнської поверхні народженої плаценти з оцінкою особливостей будови котиледонів, оцінку варіанта прикріплення пуповини до плаценти, типу розгалуження судин хоріальної пластинки, візуальної оцінки вільних плодових оболонок, визначення основних органометричних параметрів плаценти.

Вільні оболонки плаценти та оболонки, які вкривали її плодову частину, були гладенькими, блискучими, сіро-рожевого кольору, пуповина без особливостей. В обидва терміни гестації плацента у всіх спостереженнях зберігала дископодібну форму, при паралельних пластинчастих розрізах тканини плаценти візуально не визначалися явно нефункціонуючі зони.

Тип прикріплення пуповини до плаценти розподілився таким чином: центральний тип відзначався у 22 спостереженнях (57,9%), парацентральный – у 12 (31,6%), маргінальний – у 4 спостереженнях (10,5%).

При визначенні типу розгалуження судин у хоріальній пластинці встановлені такі співвідношення: розсипний та проміжний типи розгалуження судин у хоріальній пластинці встановлені у 17 випадках (89,5%). Магістральний тип розгалуження судин у хоріальній пластинці виявлено у 4 випадках (10,5%).

Материнська поверхня більшості плацент в 29-32 тижні та 33-36 тижнів вагітності характеризувалася чіткими межами між котиледонами. Відмічалася виражена тенденція до утворення глибоких борозен між котиледонами, що особливо простежувалося в термін гестації 33-36 тижнів (рис. 4.1). Макроскопічно ми спостерігали вогнища фібрину, поодинокі згустки крові. Поодинокі кальцинати мали вигляд чітко відмежованих ущільнень білувато-сірого кольору, діаметр яких у середньому коливався від 0,8 мм до 1,3 мм.

Основні органометричні просторові параметри продемонстровані у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1 – Органометричні просторові параметри плаценти при поєднанні передчасного дозрівання хоріальних ворсинок та залізодефіцитної анемії вагітних у термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів ($M \pm m$)

Групи дослідження	Маса плаценти (г)	Товщина плаценти (см)	Площа материнської поверхні (см ²)	Об'єм плаценти (см ³)
Фізіологічна вагітність (n=21)	486±6,43	2,37±0,052	212±6,1	489,9±6,3
29-32 тижні гестації				
Основна група 1 (n=18)	438±3,8 pФВ≤0,001 p2≤0,001	2,12±0,062 pФВ=0,003 p2=0,004	175±4,3 pФВ≤0,01 p2≤0,01	372±8,6 pФВ≤0,001 p2≤0,001
33-36 тижнів гестації				
Основна група 2 (n=20)	473±4,7 pФВ≤0,001	2,29±0,050 pФВ≥0,05	206±3,1 pФВ≥0,05	473±6,2 pФВ≥0,05

Примітка. p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

Гістологічно переважали термінальні та проміжні зрілі хоріальні ворсинки. У невеликій кількості траплялися термінальні «спеціалізовані» ворсинки, проте наявність ЗДАВ, імовірно, порушує утворення синцитіо-капілярних мембран, що негативно відображалось на відсотку термінальних «спеціалізованих» хоріальних ворсин. Строма хоріальних ворсинок виражено щільна, з щільно розташованими колагеновими волокнами, виражені явища склерозу. Строма проміжних зрілих ворсинок складалася з дезорієнтованих щільних пучків сполучної тканини з окремими фібробластами та макрофагами. Наявний інтервільозний фібриноід, який з'єднаний з поверхнею хоріальних ворсинок. У термін гестації 33-36 тижнів фібриноід траплявся у вигляді великого клубка в комплексі зі склеєними хоріальними ворсинками.

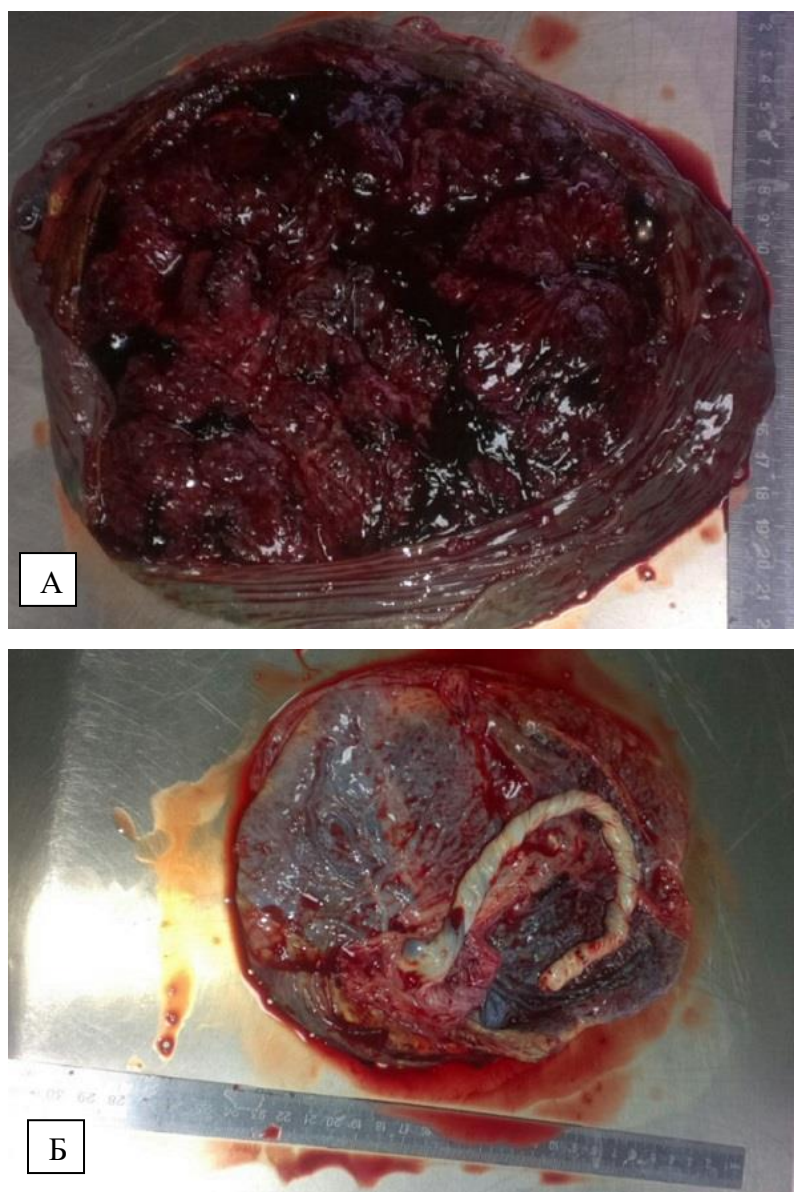


Рисунок 4.1 Макроскопічний вигляд плаценти у термін гестації 34 тижнів.

А – материнська поверхня плаценти; Б – плодова поверхня плаценти.

Результати обрахунку різних типів хоріальних ворсинок у основних групах 1 та 2 у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів подані в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2 – Відсоткове співвідношення різних типів хоріальних ворсинок в основних групах 1 та 2 (М± m)

Типи хоріальних ворсинок	Основна група 1 (n=18)	Основна група 2 (n=20)	Типи хоріальних ворсинок	Основна група 1 (n=18)	Основна група 2 (n=20)
Стовбурові «ранні»	0,8±0,02 p1Б<0,001 p1В<0,001	0,1±0,01 p2Б<0,001 p2В<0,001	Проміжні незрілі	7,9±0,28 p1А<0,001 p1Б=0,003 P1В=0,007	7,2±0,23 p2А<0,001 p2Б<0,001 p2В<0,001
Стовбурові «пізні»	3,8±0,11 p1А=0,011 p1Б=0,002 p1В=0,003	4,8±0,11 p2А=0,010	Проміжні зрілі	26,5±0,64 p1Б<0,001 p1В=0,001	18,0±0,54 p2А=0,011 p2Б=0,001 p2В=0,008
Трофобластичні та вільозні відростки	3,4±0,12 p1А=0,006	2,4±0,09 p2А<0,001 p2В=0,005	Термінальні	53,8±0,98 p1Б<0,001 p1В=0,001	44,5±0,74 p2А=0,005 p2Б<0,001 p2В<0,001
Мезенхімальні	0,5±0,01 p1А<0,001 p1Б<0,001 p1В=0,004	0,4±0,02 p2В=0,011	Термінальні «спеціалізовані»	2,4±0,15 p1А<0,001 p1Б=0,002 p1В<0,001	21,8±0,64 p2А<0,001 p2Б<0,001 p2В<0,001
Ембріональні	0,9±0,02 p1А=0,008 p1Б<0,001 p1В=0,001	0,8±0,02 p2Б<0,001 p2В<0,001			

Примітка. p1А – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1А; p1Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1Б; p1В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1В; p2А – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2А; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2Б; p1В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2В.

Як видно з даних наведеної вище таблиці, в обох групах спостереження ступінь зрілості хоріального дерева не досягав рівня фізіологічної вагітності (стовбурові «ранні» – $0,1 \pm 0,01$; стовбурові «пізні» – $4,0 \pm 0,21$; трофобластичні та вільозні відростки – $1,1 \pm 0,04$; мезенхімальні – $0,4 \pm 0,02$; ембріональні – $0,6 \pm 0,02$; проміжні незрілі – $3,0 \pm 0,14$; проміжні зрілі – $14,9 \pm 0,83$; термінальні – $38,4 \pm 1,14$; термінальні «спеціалізовані» – $37,5 \pm 1,16$). Статистична вірогідність розбіжності з фізіологічною вагітністю для обох вказаних груп дослідження є достовірною ($p < 0,05$).

При передчасному дозріванні в поєднанні зі ЗДАВ у термін гестації 29-32 тижнів (основна група 1) сумарний відсоток зрілих типів хоріальних ворсинок становив $86,5 \pm 0,84\%$.

У термін гестації 29-32 тижні передчасне дозрівання при ЗДАВ характеризувалося меншим ступенем зрілості порівняно з основною групою 2. Конкретно це виражалося в меншому сумарному відсотку термінальних і термінальних «спеціалізованих» ворсинок, але більшим відсотком – проміжних незрілих ворсинок. Окрім того, в групі жінок з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти та ЗДАВ виявлений збільшений відсоток трофобластичних і вільозних відростків, тобто джерел новоутворення хоріальних ворсинок.

У цілому, для передчасного дозрівання хоріального дерева у термін гестації 29-32 тижні при ЗДАВ властивим було, насамперед, значне збільшення сумарного відсотка термінальних і термінальних «спеціалізованих» ворсинок, зниження сумарного відсотка стовбурових ворсинок, зниження відсотка ембріональних ворсинок. Останній факт є дуже цікавий тим, що ембріональні ворсинки відрізнялися від мезенхімальних, які є попередниками ембріональних, насамперед, наявністю капілярів. Цей факт дозволяє позитивно оцінити перспективу вивчення процесів ангіогенезу при передчасному дозрівання хоріального дерева (рис. 4.2).

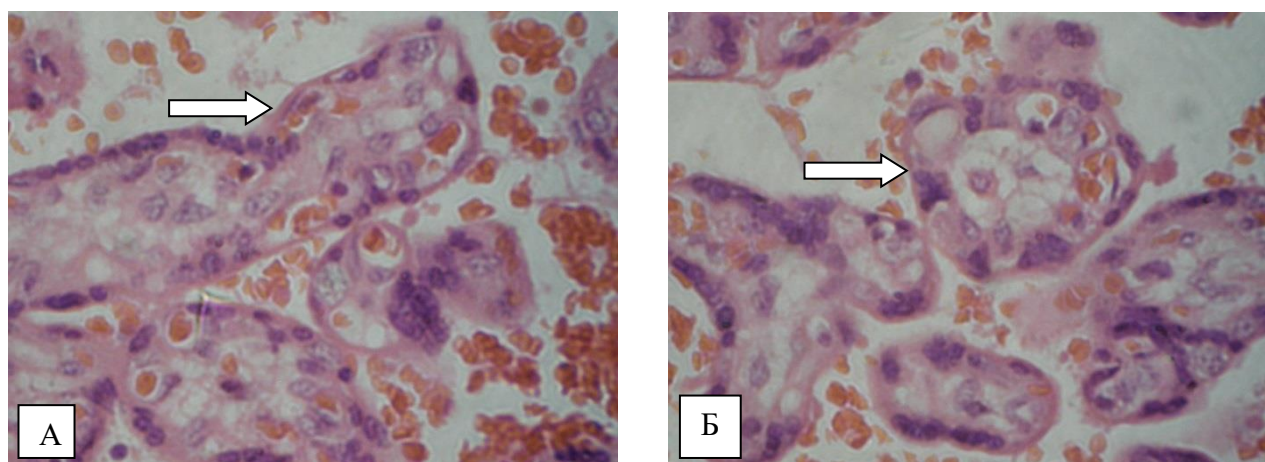


Рисунок 4.2 Хоріальне дерево плаценти з передчасним дозріванням на тлі ЗДАВ. А – термінальна «спеціалізована» хоріальна ворсинка в 30 тижнів гестації, зміщення капілярів до периферії ворсинки; Б – термінальні хоріальні ворсинки в 36 тижнів гестації. Гематоксилін та еозин.

Збільшення: Об.40^x. Ок.10^x

Сумарний відсоток зрілих типів хоріальних ворсинок при передчасному дозріванні плаценти на тлі ЗДАВ у термін гестації 33-36 тижнів (основна група 2) становив $89,1 \pm 0,78\%$. Передчасне дозрівання хоріального дерева при ЗДАВ у термін гестації 33-36 тижнів полягало у зменшенні відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок (в яких порівняно зі звичайними термінальними ворсинками більше капілярів і розташовані вони, в основному, впритул до субепітеліальної базальної мембрани, причому капіляри переважно були розширені), що служить позитивною перспективою для вивчення процесів ангиогенезу (перебудови раніше утворених кровоносних судин), у розподілі відсотків поміж проміжних ворсинок у бік незрілих, у збільшенні відсотка трофобластичних та вільозних відростків. Суть передчасного дозрівання хоріального дерева у термін гестації 33-36 тижні полягала, в основному, в зростанні сумарного відсотка термінальних ворсинок та відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок (рис. 4.3).

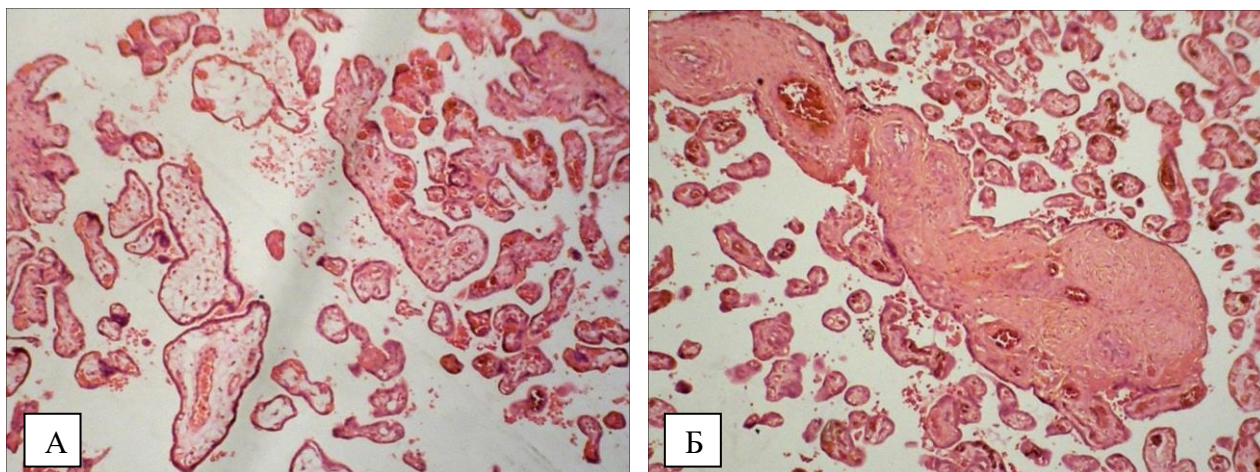


Рисунок 4.3 Хоріальне дерево плаценти з передчасним дозріванням у жінок із залізодефіцитною анемією вагітних. А – 30 тижнів гестації; Б – 34 тижнів гестації. Гематоксилін та еозин. Збільшення: Об.4^x. Ок.10^x

4.2 Імуногістохімічне дослідження плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок

З метою встановлення кількісних параметрів вмісту плацентарних гормонів, а саме плацентарного лактогену та хоріонічного гонадотропіну в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти, нами було проведено імуногістохімічне дослідження.

Отримані результати оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти зазначені у таблиці 4.3.

Таблиця 4.3 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,424 \pm 0,0028$
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	18	$0,318 \pm 0,0029$ p1B<0,001 p2<0,001 p1A<0,001 pФВ<0,001
33-36 тижнів гестації		
Основна група 2	20	$0,352 \pm 0,0021$ p2A=0,003 p2B=0,002 pФВ<0,001

Примітка. p1A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1A; p1B – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1B; p2A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2A; p2B – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2B; p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

Отримані дані цілком підтверджують інформацію про те, що продукція плацентарного лактогену зазвичай зростає з терміном вагітності. З таблиці видно, що передчасне морфологічне дозрівання хоріального дерева не супроводжувалося передчасним гормональним дозріванням у відношенні до плацентарного лактогену. На противагу, показники при передчасному дозріванні на тлі ЗДАВ були близькими до показників групи контролю 1Б та 2Б з нормальним розвитком хоріального дерева ($0,316 \pm 0,0024$; $0,349 \pm 0,0021$). Водночас, при передчасному дозріванні хоріального дерева на тлі ЗДАВ зберігається закономірність щодо зниження показників плацентарного лактогену в трофобласті хоріальних ворсинок.

Експресія плацентарного лактогену в хоріальних ворсинках плаценти у жінок з передчасним дозріванням плаценти та тлі ЗДАВ проілюстрована на рисунку 4.4.

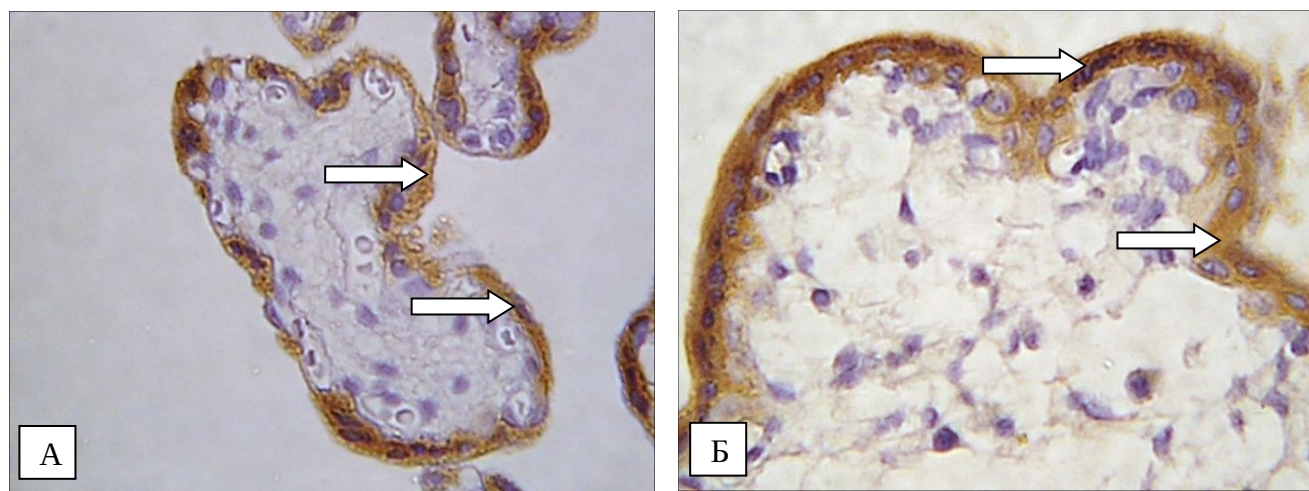


Рисунок 4.4 Експресія плацентарного лактогену в хоріальних ворсинках у жінок із передчасним дозріванням плаценти та залізодефіцитною анемією (А – 31 тиждень гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічне типування первинними антитілами до плацентарного лактогену (Polyclonal Rabbit Anti-Human Placental Lactogen).

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Керуючись інформацією про те, що вміст хоріонічного гонадотропіну знижується з плином вагітності [264], очікувалося, що оптична густина імуногістохімічного забарвлення на зазначений гормон повинна бути менша у поданих групах дослідження. Проте, як простежується з даних таблиці 4.4, в основній групі 1 показники хоріонічного гонадотропіну досягають рівня як при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Враховуючи очікування щодо зниження рівня гормону поступово до 37-го тижня вагітності, ми отримали особливо високі показники хоріонічного гонадотропіну у терміні 29-32 тижнів вагітності. Отримані результати оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти зазначені у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,214 \pm 0,0023$
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	18	$0,226 \pm 0,0020$ $p_{\Phi B} < 0,001$ $p_{1A} < 0,001$ $p_{1B} < 0,001$ $p_2 > 0,05$
33-36 тижнів гестації		
Основна група 2	20	$0,218 \pm 0,0019$ $p_{2A} = 0,003$ $p_{2B} < 0,001$ $p_{\Phi B} > 0,05$

Примітка. p_{1A} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1A; p_{1B} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1B; p_{2A} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2A; p_{2B} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2B; p_2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; $p_{\Phi B}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

Зображення експресії хоріонічного гонадотропіну в хоріальних ворсинках плаценти у жінок з передчасним дозріванням плаценти в поєднанні зі ЗДАВ у два різні терміни – 29-32 та 33-36 тижнів гестації – проілюстроване за допомогою рисунка 4.5.

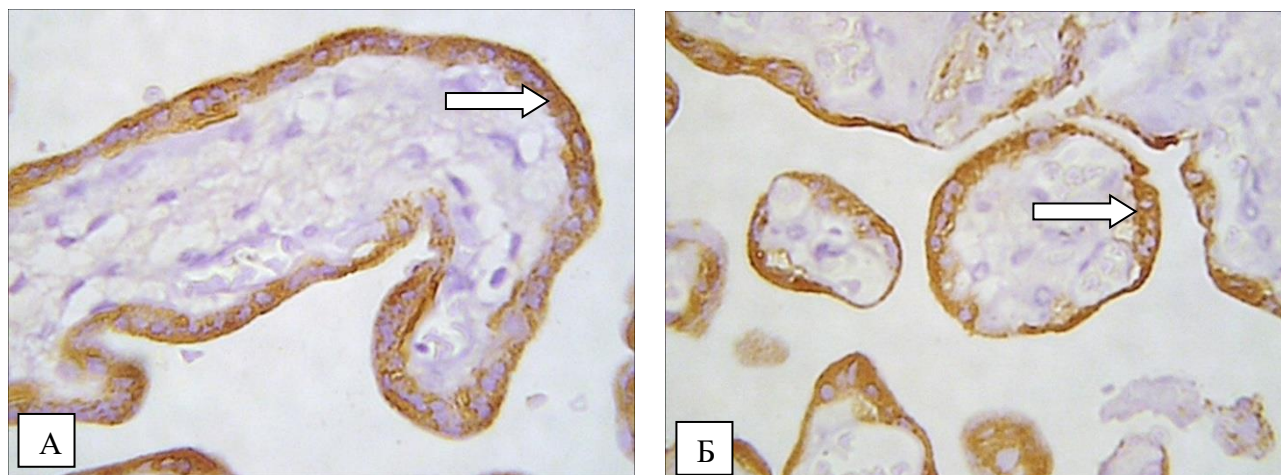


Рисунок 4.5 Експресія хоріонічного гонадотропіну в хоріальних ворсинках плаценти із передчасним дозріванням у жінок із залізодефіцитною анемією (А – 30 тиждень гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічне типування первинними антитілами до хоріонічного гонадотропіну (Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin (hCG)).

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

4.3 Гістохімічне та імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази

Плацентарна лужна фосфатаза як імуногістохімічним методом, так і гістохімічним методом визначалася у трофобласті хоріальних ворсинок. Кількісні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок в обох основних групах спостереження представлені в таблиці 4.5.

Таблиця 4.5 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні плацентарної лужної фосфатази ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,348 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	18	$0,164 \pm 0,0015$ pФВ<0,001 p1A<0,001 p1B<0,001 p2<0,001
33-36 тижнів гестації		
Основна група 2	20	$0,190 \pm 0,0014$ pФВ<0,001 p2A<0,001 p2B<0,001

Примітка. p1A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1A; p1B – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1B; p2A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2A; p2B – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2B; p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

При фізіологічній вагітності оптична густина імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу в трофобласті хоріальних ворсинок була значно більшою, ніж при передчасних пологах у жінок з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ. Разом з тим, якщо порівняти між собою два терміни гестації (29-32 та 33-36 тижнів), то можна зауважити, що у цілому є тенденція до зростання оптичної густини імуногістохімічного забарвлення в трофобласті хоріальних ворсинок з

наростанням терміну гестації. Таким чином, показники плацентарної лужної фосфатази вільозного трофобласта віддзеркалюють ступінь дозрівання хоріального дерева. З наведених у таблиці 4.4 даних видно ще одну закономірність – при ЗДАВ суттєво знижувалася оптична густина імуногістохімічного забарвлення плацентарної лужної фосфатази, незалежно від попередньо встановленого факту передчасного дозрівання хоріального дерева. Вказане явище було характерним для обох вивчених термінів гестації.

Експресія плацентарної лужної фосфатази в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням плаценти представлена на рисунку 4.6.

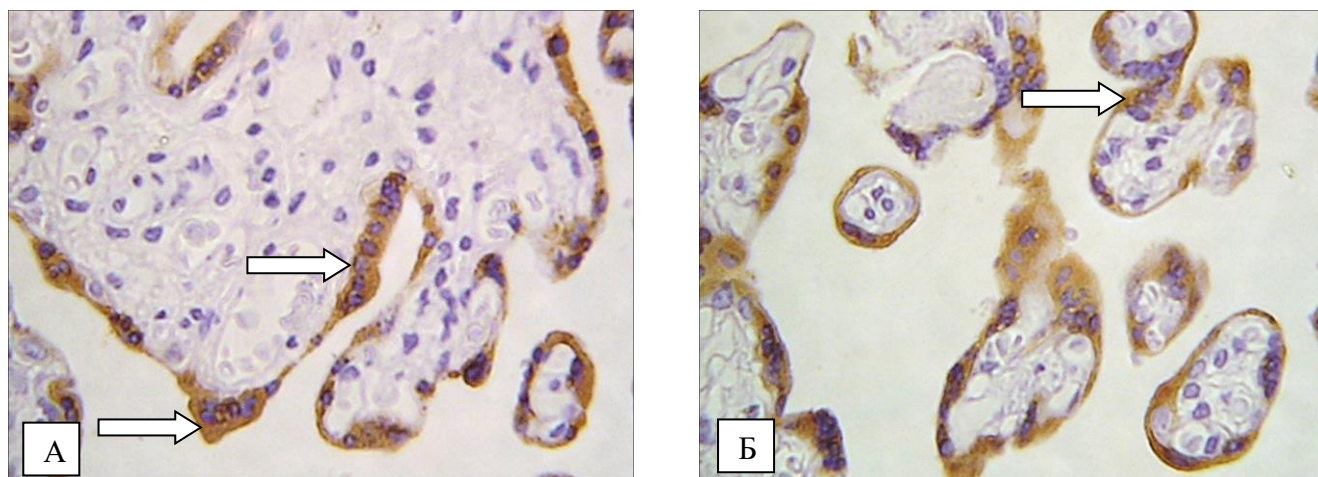


Рисунок 4.6 Експресія плацентарної лужної фосфатази в хоріальних ворсинках плаценти із передчасним дозріванням у жінок із залізодефіцитною анемією вагітних (А – 32 тиждень гестації; Б – 36 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з моноклональними антитілами (Clone 8A9) і забарвленням ядер гематоксиліном Майєра. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Дані про оптичну гуστину імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення наведені у таблиці 4.6.

Таблиця 4.6 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,234 $\pm$ 0,0013
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	18	0,124 $\pm$ 0,0011 pФВ<0,001 p2<0,001
33-36 тижнів гестації		
Основна група 2	20	0,148 $\pm$ 0,0012 pФВ<0,001 p2A<0,001 p2B<0,001

Примітка. p2A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2A; p2B – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2B; p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

З табличних даних видно, що найбільша оптична густина забарвлення при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази зафіксована при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Простежується закономірність зростання активності плацентарної лужної фосфатази з терміном гестації. У термін гестації 33-36 тижнів у жінок зі ЗДАВ відзначається зниження активності та показників імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу порівняно з групою 2A (передчасне дозрівання без ЗДАВ, $p < 0,001$). Однак у термін 29-32 тижні вагітності активність плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти не корелювала з її показниками імуногістохімічного забарвлення.

Забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення проілюстроване на рисунку 4.7.

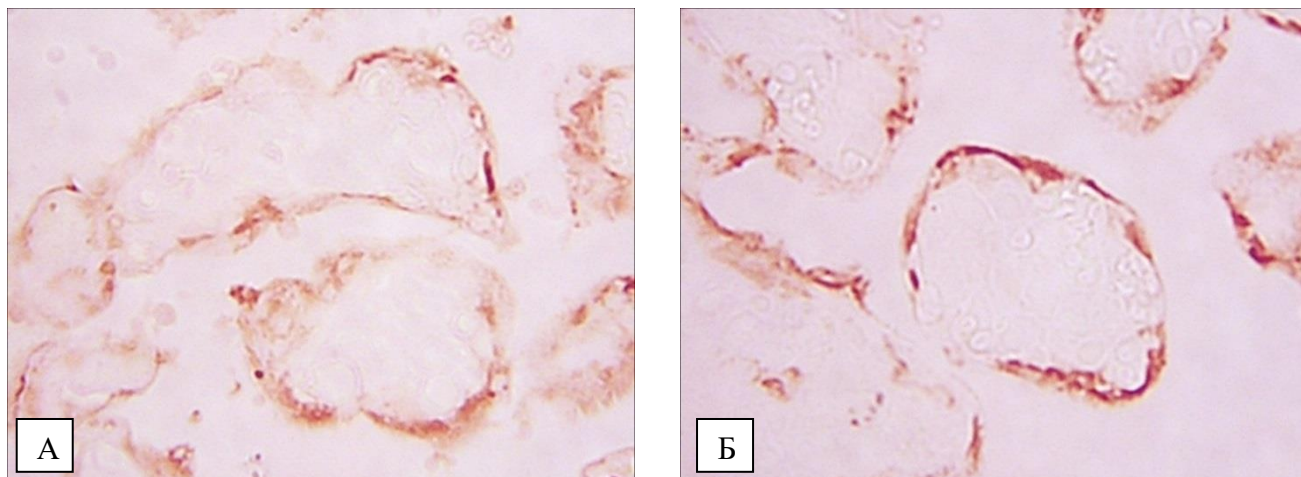


Рисунок 4.7 Зростання ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок плаценти з передчасним дозріванням у жінок із залізодефіцитною анемією (А – 30 тиждень гестації; Б – 34 тижні гестації). Гістохімічна методика методом азосполучення. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

4.4 Імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11 β -HSD-2) в синцитіотрофобласті

З метою встановлення можливого впливу на механізми виникнення передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти у жінок зі ЗДАВ та передчасними пологамі нами було проведено імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11 β -HSD-2) в СТ хоріальних ворсинок плаценти у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів. Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на 11 β -HSD-2 в обох основних групах спостереження вказані в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогеназу в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,285 \pm 0,0012$
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	18	$0,281 \pm 0,0018$ pФВ>0,05 p1A=0,005 p1Б<0,001 p1В<0,001 p2>0,05
33-36 тижнів гестації		
Основна група 2	20	$0,283 \pm 0,0017$ pФВ>0,05 p2A=0,007 p2Б<0,001 p2В<0,001

Примітка. p1A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1A; p1Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1Б; p1В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1В; p2A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2A; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2Б; p2В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2В; p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

Аналізуючи отримані результати, зауважуємо, що показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на 11 β -HSD-2 в обох групах спостереження наближалися до показника як при фізіологічній вагітності, хоча значення не були статистично значущими, $p > 0,05$. Таким чином, вказане зростання оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на 11 β -HSD-2 може бути причиною передчасних пологів в обох основних групах спостереження.

Експресія ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти в термінах гестації 29-32 і 33-36 тижнів у вагітних з анемією та передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти представлена на рисунку 4.8.

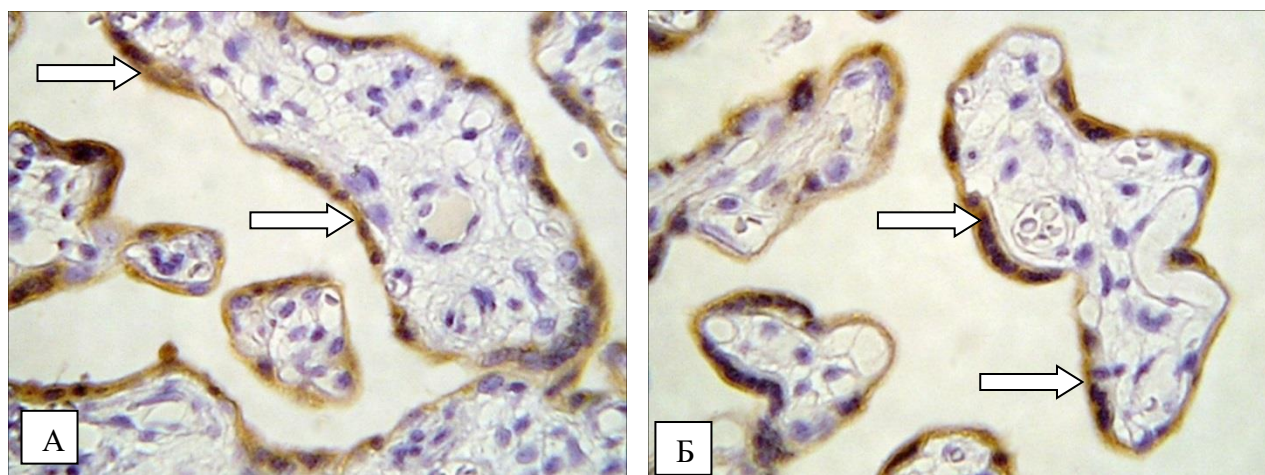


Рисунок 4.8 Експресія ферменту 11 β -HSD-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з передчасним дозріванням у жінок із залізодефіцитною анемією (А – 31 тиждень гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням Polyclonal Rabbit Anti-Human 11 β -HSD-2 з дозобарвленням гематоксиліном Майєра. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

4.5 Дослідження експресії віментину в структурах ворсинок

Віментин відіграє роль у підтримці та закріпленні розташування органел у цитозолі клітин [153]. Вважається, що дослідження експресії віментину судинного русла трофобласта є цінним інструментом для вивчення ПН [249] тому, що віментин – зручний молекулярний фактор зрілості клітин і дає можливість оцінити активність ангіогенезу в тканині та прогнозувати розвиток судинної системи [5].

Нами було досліджено показники віментину у фібробластах та ендотеліюцитах строми хоріальних ворсинок у жінок з передчасними пологами на тлі ЗДАВ та передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти.

Оптичну густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням плаценти у жінок зі ЗДАВ представлено в таблиці 4.8.

Таблиця 4.8 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,244 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	18	$0,118 \pm 0,0010$ $p_{\Phi B} < 0,001$ $p_{1A} < 0,001$ $p_{1B} = 0,002$ $p_{1B} < 0,001$ $p_2 < 0,001$
33-36 тижні гестації		
Основна група 2	20	$0,146 \pm 0,0010$ $p_{\Phi B} < 0,001$ $p_{2A} < 0,001$ $p_{2B} < 0,001$ $p_{2B} < 0,001$

Примітка. p_{1A} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1A; p_{1B} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1B; p_{1B} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1B; p_{1B} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1B; p_{2A} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2A; p_{2B} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2B; p_{2B} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2B; p_2 – вірогідність розбіжності середніх показників групи 1 з групою 2; $p_{\Phi B}$ – вірогідність розбіжності з фізіологічною вагітністю.

З даних таблиці 4.8 щодо дослідження передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти у жінок на тлі ЗДАВ зрозуміло що, значення оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах не досягало рівнів, характерних для фізіологічної вагітності ($p < 0,001$). Проте у термін гестації 33-36 тижнів оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин була вища у порівнянні з терміном 29-32 тижні ($p < 0,001$).

Щодо фібробластів, то характерною їхньою особливістю було те, що в обох основних групах спостереження 1 та 2 зафіксовані найнижчі середні величини оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин. Отримані показники в обох основних групах спостереження навіть нижчі, ніж при спостереженнях, коли будова хоріального дерева плаценти відповідає терміну гестації (група 1Б – $0,126 \pm 0,0012$ в. од. опт. густини; група 2Б – $0,308 \pm 0,0025$ в. од. опт. густини). Таким чином, ми схилиємося до думки про те, що дослідження показників віментину дає уявлення про стан розвитку судинного русла плаценти. В основних групах спостереження об'єктом дослідження стало передчасне дозрівання хоріального дерева, проте з отриманих даних віментину ми побачили, що кількісні його показники менші порівняно з групами спостереження, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації ($p < 0,001$).

Оптичну густина імуногістохімічного забарвлення на віментин в ендоліоцитах хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням плаценти представлено в таблиці 4.9.

Стосовно ендотеліоцитів, то в обидва терміни гестації (29-32 та 33-36 тижнів) в основних групах спостереження відзначені також найнижчі середні значення порівняно з іншими групами спостереження ($p_{1A} < 0,001$, $p_{1B} < 0,001$; $p_{2A} < 0,001$, $p_{2B} < 0,001$).

Таблиця 4.9 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин в ендотелії хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,448 $\pm$ 0,0029
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	18	0,301 $\pm$ 0,0026 pФВ<0,001 p1A<0,001 p1B<0,001 p2<0,001
33-36 тижнів гестації		
Основна група 2	20	0,352 $\pm$ 0,0029 pФВ<0,001 p2A<0,001 p2B<0,001

Примітка. p1A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1A; p1B – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1B; p2A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2A; p2B – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2B; p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

Зображення експресії віментину у фібробластах та ендотелії хоріальних ворсинок плаценти проілюстроване на рисунку 4.9.

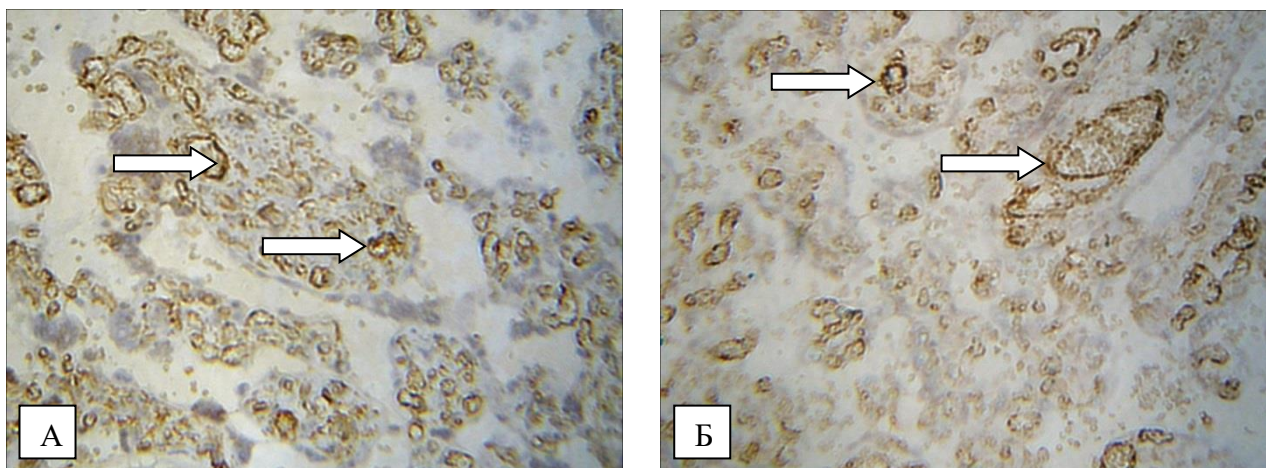


Рисунок 4.9 Експресія віментину у фібробластах та ендотелії хоріальних ворсинок плаценти з передчасним дозріванням у жінок із залізодефіцитною анемією (А – 31 тиждень гестації; Б – 33 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням моноклональних антитіл (clone V9).

Збільшення: Об.20^x, Ок.10^x

4.6 Дослідження обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти

Дослідження ступеня обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти було проведено за допомогою нінгідриново-шиффової реакції на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava, результати якої були виміряні методом комп'ютерної мікроденситометрії. Гістохімічне визначення обмеженого протеолізу є одним із тонких методів встановлення однієї з форм альтерації структур [120, 143]. Кількісною мірою обмеженого протеолізу слугувала величина оптичної густини (від 0 – відсутність забарвлення, абсолютна прозорість, до 1 – максимальне забарвлення, абсолютна непрозорість), яку вимірювали у відносних одиницях оптичної густини на цифрових копіях монохромного зображення шляхом комп'ютерної мікроденситометрії за допомогою комп'ютерної програми ImageJ (версія 1.48v, вільна ліцензія, W.Rasband, National Institute of Health, USA, 2015) [184].

Дані про середні величини оптичної густини забарвлення наведені у таблиці 4.10.

Таблиця 4.10 – Оптична густина гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість плацент (n)	Оптична густина гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,164±0,0014
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	18	0,245±0,0018 pФВ<0,001 p1А<0,001 p1Б<0,001 p1В<0,001 p2>0,05
33-36 тижнів гестації		
Основна група 2	20	0,243±0,0020 pФВ<0,001 p2А<0,001 p2Б<0,001 p2В<0,001

Примітка. p1А – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1А; p1Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1Б; p1В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1В; p2А – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2А; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 2Б; p2В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2В; p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

З поданих чисел видно, що усереднені показники оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків для обох термінів вагітності перевищували дані при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Для обох основних груп дослідження середні показники оптичної густини гістохімічного забарвлення були найвищими ($p < 0,001$).

Наведені дані вказують на те, що при передчасному дозріванні хоріального дерева на тлі ЗДАВ в трофобласті хоріальних ворсинок фіксуються найвищі показники рівня обмеженого протеолізу. Тобто у жінок з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ розвивається альтерація трофобласта, якої не видно при застосуванні забарвлення гематоксиліном та еозином.

Зображення гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти проілюстроване на рисунку 4.10.

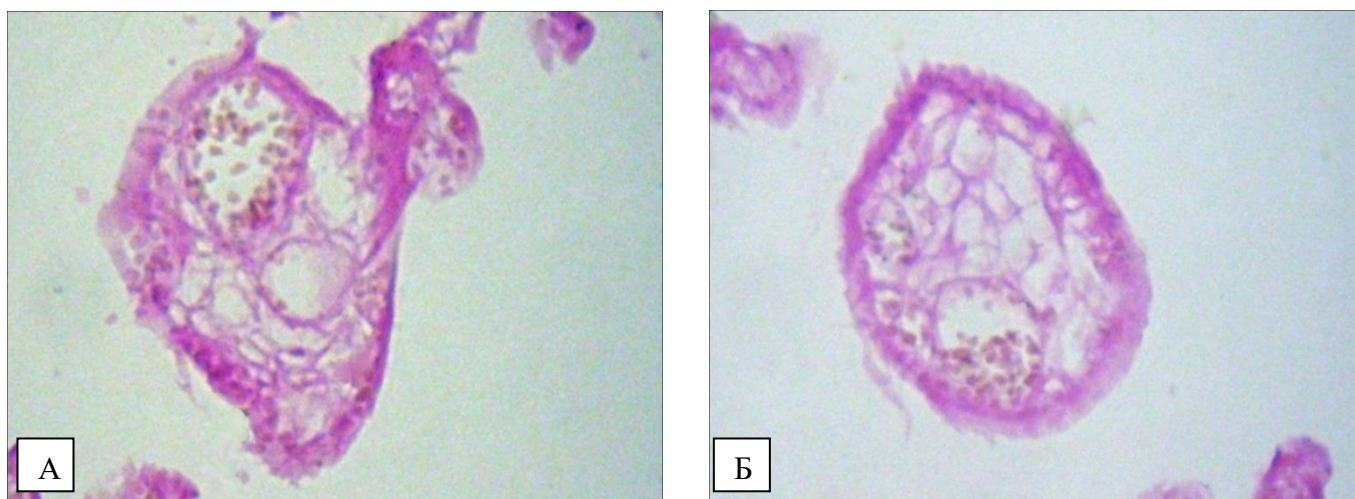


Рисунок 4.10 Експресія вільних аміногруп білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з передчасним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією вагітних (А – 30 тижнів гестації; Б – 35 тиждень гестації).

Нінгідриново-шиффовська гістохімічна реакція на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikawa. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

4.7 Дослідження окиснювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти

Дані про середні величини коефіцієнту R/V наведені у таблиці 4.11.

Таблиця 4.11 – Коефіцієнт R/V при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo в трофобласті хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість плацент (n)	Коефіцієнт R/V при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo
Фізіологічна вагітність	21	1,02±0,012
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	19	1,34±0,016 pФВ<0,001 p1A<0,001 p1Б=0,003 p1В<0,001 p2>0,05
33-36 тижнів гестації		
Основна група 2	20	1,38±0,021 pФВ<0,001 p2A<0,001 p2Б=0,002 p2В<0,001

Примітка. p1A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1A; p1Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1Б; p1В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1В; p2A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2A; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 2Б; p2В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2В; p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

Дана методика дозволяє виявити різновид альтерації структур, механізм якої пов'язаний зі зростанням рівня вільнорадикальних процесів в тканині плаценти. Застосована методика комп'ютерної мікроспектрофотометрії гістологічних препаратів, які були забарвлені бромфеноловим синім за методом Mikel Calvo. Кількісним показником служив спектрометричний показник – коефіцієнт R/B (табл. 4.11). З наведеної вище таблиці видно, що усереднені показники коефіцієнту R/B при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo для обох термінів вагітності перевищували показники при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Показники вказують на те, що при передчасному дозріванні хоріального дерева на тлі ЗДАВ зафіксована альтерація трофобласта, яка розвивається за механізмом вільнорадикального ушкодження. Причому для обох основних груп спостереження середні показники коефіцієнту R/B при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo були найвищими ($p < 0,001$). Результати забарвлення методикою за Mikel Calvo на виявлення «кислих» та «основних» білків при гістохімічному дослідженні проілюстровані на рисунку 4.11.

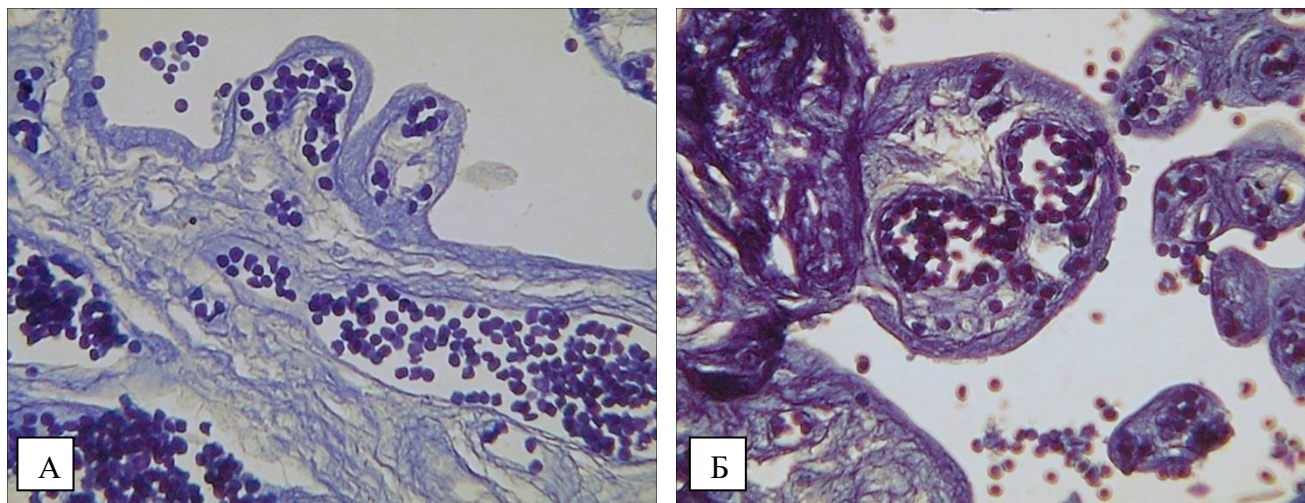


Рисунок 4.11 Хоріальне дерево плаценти з передчасним дозріванням у жінок із залізодефіцитною анемією, переважання основних білків над кислими (А – 32 тижнів гестації; Б – 34 тижнів гестації). Гістохімічна реакція на «кислі» та «основні» білки бромфеноловим синім за Mikel Calvo.

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Отримані результати дослідження щодо процесів ОМБ, обмеженого протеолізу та стану процесів продукції окремих специфічних білків вагітності дозволили висунути припущення про те, що ці процеси взаємопов'язані. Таке припущення стало мотивом для застосування кореляційного дослідження, зокрема застосування бінарного лінійного кореляційного методу Пірсона.

Згідно з вказаним методом коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона між коефіцієнтом R/V в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген становив «-0,844», а коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона між коефіцієнтом R/V в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу – «-0,781». Такі коефіцієнти кореляції вказують на сильну негативну кореляційну залежність продукції плацентарного лактогену та плацентарної лужної фосфатази від інтенсивності процесів вільно радикального окиснення білків.

Подібні результати були отримані також щодо процесів обмеженого протеолізу. Зокрема, коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона між оптичною густиною гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген становив «-0,806», а коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона між оптичною густиною гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу – «-0,744».

Разом з тим очікувано високим, але позитивним виявився кореляційний зв'язок між коефіцієнтом R/V в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти – «+0,912».

4.8 Дослідження регуляції проліферативної активності та відмирання трофобласта

Отримані дані щодо проліферативної активності плацент наведені у таблиці 4.12.

Таблиця 4.12 – Ki-67-позитивні ядра в трофобласті хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість плацент (n)	Ki-67-позитивні ядра в трофобласті ХВ (%)
Фізіологічна вагітність	21	$3 \pm 0,1$
29-32 тижні гестації		
Основна група 1	20	$68 \pm 1,4$ $p_{\Phi B} < 0,001$ $p_{1A} < 0,001$ $p_{1B} = 0,004$ $p_{1V} < 0,001$ $p_2 < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Основна група 2	20	$54 \pm 1,3$ $p_{\Phi B} < 0,001$ $p_{2A} < 0,001$ $p_{2B} = 0,005$ $p_{2V} < 0,001$

Примітка. p_{1A} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1А; p_{1B} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1Б; p_{1V} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1В; p_{2A} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2А; p_{2B} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 2Б; p_{2V} – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2В; p_2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; $p_{\Phi B}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

При ушкодженні поверхні трофобласта відбувається стимуляція проліферативних процесів у плаценті [120, 143]. У наукових джерелах також згадується, що ЗДАВ спричиняє гіпоксію в тканинах плаценти [4, 6]. Помірна гіпоксія призводить до стимуляції проліферативних процесів у трофобласті хоріальних ворсин плаценти. Проте сильна гіпоксія зумовлює пригнічення процесів проліферації [54, 77, 78]. Для обох основних груп дослідження були зафіксовані високі показники Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок, також тут зберігалася тенденція щодо більш високих цифр у ранні терміни гестації. Отримані результати підкреслюють, що передчасне дозрівання хоріальних ворсинок плаценти характеризується високою проліферативною активністю, яка виникає на тлі ушкодження поверхні трофобласта хоріального дерева плаценти та ЗДАВ. Отримані зображення Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок проілюстровані за допомогою рисунка 4.12.

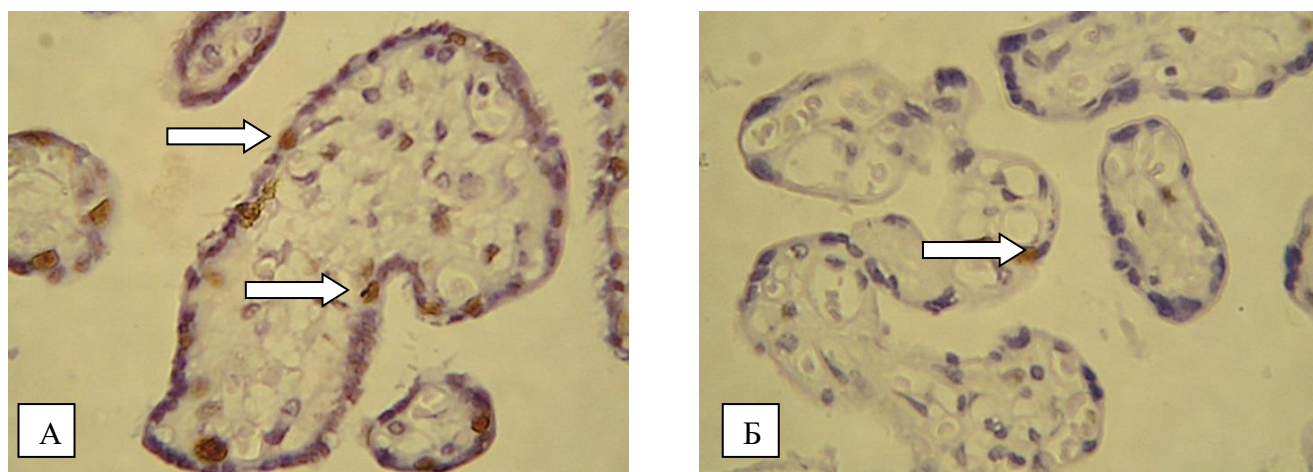


Рисунок 4.12 Проліферативна активність трофобласта хоріального дерева при передчасному його дозріванні у жінок із залізодефіцитною анемією вагітних (А – 31 тиждень гестації; Б – 34 тижні гестації). Імуногістохімічне дослідження експресії маркера проліферуючих клітин Ki-67.

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Усереднені показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на протеїн Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок зазначені в таблиці 4.13.

Таблиця 4.13 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на протеїн Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,326±0,0016
29-32 тижні гестації		
Група порівняння 1	20	0,301±0,0015 pФВ<0,001 p1A<0,001 p1Б<0,001 p1В<0,001 p2>0,05
33-36 тижнів гестації		
Група порівняння 2	20	0,304±0,0012 pФВ<0,001 p2A<0,001 p2Б<0,001 p2В<0,001

Примітка. p1A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1A; p1Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1Б; p1В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 1В; p2A – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2A; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою 2Б; p2В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою 2В. p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

В основних групах дослідження оптична густина забарвлення на протиапоптотичний протеїн Bcl-2 у середньому нижча за показники при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на протеїн Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок при порівнянні за термінами гестації між собою є статистично недостовірними ($p > 0,05$). Ми отримали результати, які показують, що при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ не відбувається збільшення продукції протеїну Bcl-2. Цей факт може бути пояснено тим, що за таких умов не відбувається активізації відповідних генів, які контролюють діяльність протеїну Bcl-2 в клітині.

Ми виявили статистично значуще зниження протеїну Bcl-2 на тлі ЗДАВ у порівнянні з групою 1А та 2А з передчасним дозріванням без ЗДАВ ($p < 0,001$). Отже, при ЗДАВ відбувається зниження протеїну Bcl-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з передчасним дозріванням.

Експресія протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок представлена на рисунку 4.13.

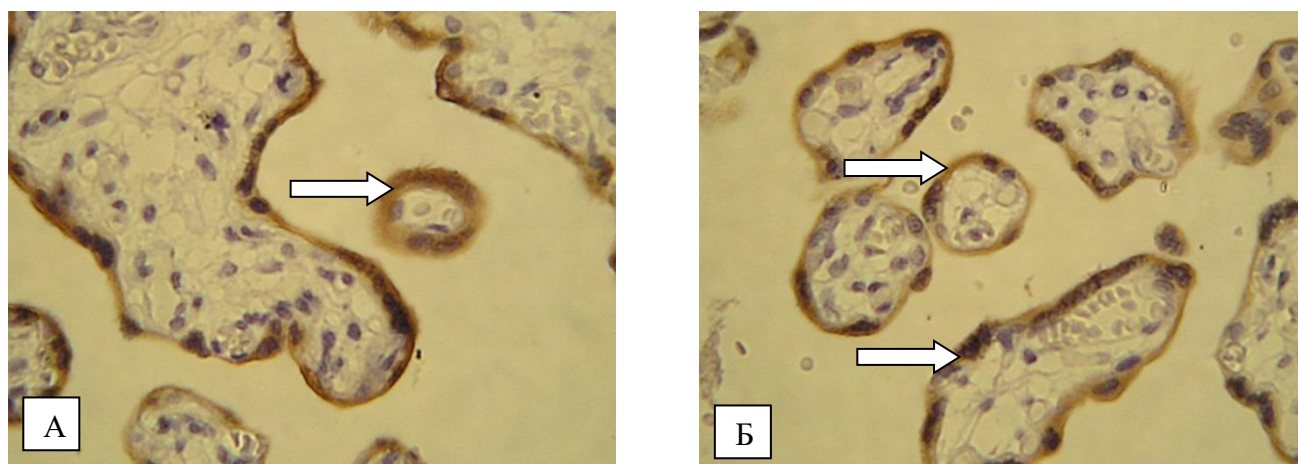


Рисунок 4.13 Експресія протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням плаценти у жінок із залізодефіцитною анемією вагітних (А – 30 тижнів гестації; Б – 34 тижнів гестації).

Імуногістохімічна методика з застосуванням антитіл протиапоптотичного протеїну Bcl-2 (Clone 124). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Отримані дані щодо оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок наведені у таблиці 4.14.

Таблиця 4.14 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,264±0,0015
29-32 тижні гестації		
Група порівняння 1	20	0,409±0,0016 pФВ<0,001 p1А<0,001 p1Б<0,001 p1В<0,001 p2=0,2067
33-36 тижнів гестації		
Група порівняння 2	20	0,412±0,0017 pФВ<0,001 p2А<0,001 p2Б<0,001 p2В<0,001

Примітка. p1А – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1А; p1Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1Б; p1В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 1В; p2А – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2А; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з групою порівняння 2Б; p2В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 2 з групою порівняння 2В; p2 – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи 1 з основною групою 2; pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю.

При передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти у жінок зі ЗДАВ оптична густина імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах є вищою, ніж у жінок з фізіологічною вагітністю ($p < 0,001$). При поєднанні ЗДАВ та передчасного дозрівання хоріальних ворсинок плаценти середні показники оптичної густини забарвлення на протеїн Вах є найвищими серед усіх груп дослідження ($p < 0,001$). Зростання рівня протеїну Вах вказує на те, що створюються умови для інтенсифікації процесів Вах-залежного апоптозу в трофобласті. В умовах ЗДАВ процеси Вах-залежного апоптозу ще більше поглиблюються порівняно з групою 1А передчасного дозрівання без ЗДАВ ($p < 0,001$).

Зображення експресії протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок проілюстровані на рисунку 4.14.

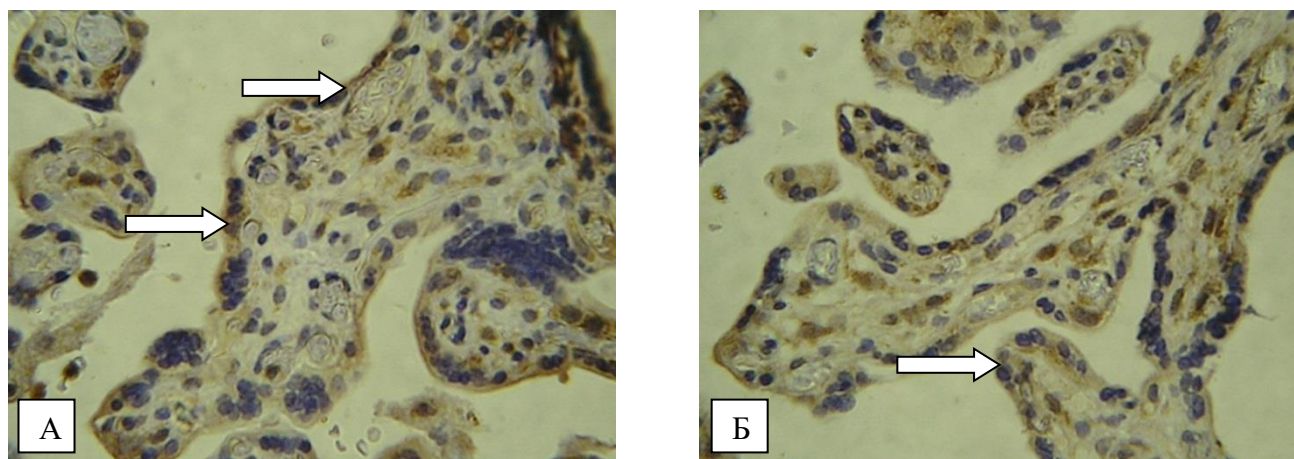


Рисунок 4.14 Експресія протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок з передчасним дозріванням плаценти у жінок із залізодефіцитною анемією вагітних (А – 32 тиждень вагітності; Б – 35 тиждень вагітності).

Імуногістохімічне типування з застосуванням антитіл проапоптотичного протеїну Вах (Polyclonal Rabbit Anti-Human Bax).

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Резюме

Нами проведене органометричне, гістологічне, гістохімічне та імуногістохімічне дослідження предчасного дозрівання хоріального дерева плаценти в поєднанні зі ЗДАВ у два терміни – 29-32 та 33-36 тижнів гестації.

Хоріальне дерево плаценти з передчасним дозріванням на тлі ЗДАВ у термін гестації 29-32 тижнів характеризується збільшенням сумарного відсотка термінальних і термінальних «спеціалізованих» ворсинок, зниженням сумарного відсотка стовбурових ворсинок, зниженням відсотком ембріональних ворсинок, збільшенням відсотка трофобластичних та вільозних відростків (джерел новоутворення хоріальних ворсинок) ($p < 0,001$) і сумарним відсотком зрілих типів хоріальних ворсинок – $86,5 \pm 0,84\%$.

У термін гестації 33-36 тижнів передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти в поєднанні зі ЗДАВ характеризується зростанням сумарного відсотка ворсинок, зростанням відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок і сумарним відсотком зрілих типів хоріальних ворсинок – $89,1 \pm 0,78\%$.

Ступінь зрілості хоріального дерева при передчасному дозріванні в поєднанні зі ЗДАВ не досягає рівня фізіологічної вагітності ($p < 0,05$).

Передчасне морфологічне дозрівання хоріального дерева не супроводжується передчасним гормональним дозріванням у відношенні до плацентарного лактогену. Показники плацентарного лактогену при передчасному дозріванні на тлі ЗДАВ є близькими до показників групи контролю 1Б та 2Б із нормальним розвитком хоріального дерева. Водночас при передчасному дозріванні хоріального дерева на тлі ЗДАВ зберігається закономірність щодо зниження показника плацентарного лактогену в трофобласті хоріальних ворсинок.

З'ясовано, що показники хоріонічного гонадотропіну трофобласта хоріальних ворсинок плаценти з передчасним дозріванням в поєднанні зі ЗДАВ досягають рівня як при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$).

Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення та

активності плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок зростають з плином вагітності. Рівень плацентарної лужної фосфатази у вільозному трофобласті віддзеркалює ступінь дозрівання хоріального дерева при передчасному його дозріванні. В умовах ЗДАВ при передчасному дозріванні хоріального дерева пригнічується рівень плацентарної лужної фосфатази порівняно з групами 1А та 2А – передчасним дозріванням в 29-32 та 33-36 тижнів гестації без ЗДАВ ($p < 0,001$).

У термін гестації 33-36 тижнів у жінок зі ЗДАВ відбувається зниження активності плацентарної лужної фосфатази в зіставленні з групою порівняння 2А – передчасним дозріванням у 33-36 тижнів гестації без ЗДАВ ($p < 0,001$).

У термін гестації 29-32 тижні активність плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти не корелює з рівнем її оптичної густини імуногістохімічного забарвлення.

Передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти в поєднанні зі ЗДАВ характеризується високими показниками ферменту 11β -HSD-2, який запускає стимуляцію пологової діяльності у вагітних жінок.

У жінок із передчасними пологами на тлі ЗДАВ та передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти показники віментину у фібробластах та ендотеліоцитах є найнижчою порівняно з іншими групами дослідження ($p < 0,001$). Дослідження рівня віментину дає уявлення про стан розвитку судинного русла плаценти.

При передчасному дозріванні хоріального дерева на тлі ЗДАВ в трофобласті хоріальних ворсинок зафіксовані найвищі показники обмеженого протеолізу. Таким чином, у жінок з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ розвивається альтерація трофобласта. Отже, при передчасному дозріванні хоріального дерева на тлі ЗДАВ відбувається альтерація трофобласта, яка розвивається за механізмом вільнорадикального ушкодження. Причому для обох основних груп спостереження середні показники коефіцієнта R/V (міра окиснювальної модифікації білків) при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo були

найвищими ($p < 0,001$). Процеси ОМБ, обмеженого протеолізу та стан продукції окремих специфічних білків вагітності взаємопов'язані. При застосуванні кореляційного дослідження – бінарного лінійного кореляційного методу Пірсона – виявлено, що коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона між коефіцієнтом R/V в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген становив «-0,844», а коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона між коефіцієнтом R/V в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу – «-0,781». Такі коефіцієнти кореляції вказують на сильну негативну кореляційну залежність продукції плацентарного лактогену та плацентарної лужної фосфатази від інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення білків.

Коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона між оптичною густиною гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген становив «-0,806», а коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона між оптичною густиною гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу – «-0,744».

Установлено, що позитивний кореляційний зв'язок між коефіцієнтом R/V в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти та оптичною густиною гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти дорівнює «+0,912».

Передчасне дозрівання хоріальних ворсинок плаценти характеризується високою проліферативною активністю, яка виникає на тлі ушкодження поверхні трофобласта хоріального дерева плаценти та ЗДАВ. Для обох основних груп дослідження зафіксовано високі показники Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок.

При передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ не відбувається активізації відповідних генів, які контролюють діяльність протеїну Bcl-2 в клітині. Нами було виявлено низьку продукцію протеїну Bcl-2. В основних групах дослідження оптична густина імуногістохімічного забарвлення на протиапоптотичний протеїн Bcl-2 у середньому нижча за фізіологічну вагітність ($p < 0,001$). Ми встановили статистично значуще зниження рівня протеїну Bcl-2 на тлі ЗДАВ порівняно з групою 1А та 2А з передчасним дозріванням без ЗДАВ ($p < 0,001$). Таким чином, при ЗДАВ відбувається зниження рівня протеїну Bcl-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з передчасним дозріванням.

При поєднанні ЗДАВ та передчасного дозрівання хоріальних ворсинок плаценти середні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах є найвищими серед усіх груп дослідження ($p < 0,001$). Зростання рівня протеїну Вах вказує на те, що створюються умови для інтенсифікації процесів Вах-залежного апоптозу в трофобласті. В умовах ЗДАВ процеси Вах-залежного апоптозу ще більше поглиблюються порівняно з групою 1А передчасного дозрівання без ЗДАВ ($p < 0,001$).

Основні положення даного розділу викладені у статтях [18, 19, 21, 23, 25, 35, 186], апробовані на наукових форумах [24, 28, 30, 31, 34, 239], додатково відображені у патенті на корисну модель та раціоналізаторських пропозиціях [20, 22, 27, 32, 52].

РОЗДІЛ 5

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХОРІАЛЬНОГО ДЕРЕВА ПЛАЦЕНТИ У ВАГІТНИХ З ФІЗІОЛОГІЧНОЮ ВАГІТНІСТЮ ТА З НОРМАЛЬНИМИ ТЕМПАМИ РОЗВИТКУ ХОРІОНУ БЕЗ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ПРИ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГАХ У ТЕРМІНІ ГЕСТАЦІЇ 29-32 ТА 33-36 ТИЖНІВ

Нами представлена у цьому розділі патоморфологічна, в тому числі гісто- та імуногістохімічна характеристика ворсинчастого хоріона з нормальними темпами розвитку у вагітних без залізодефіцитної анемії, в яких були передчасні пологи в терміні гестації 29-32 і 33-36 тижнів. Для повноти картини подана також і патоморфологічна (гісто- та імуногістохімічна) характеристика ворсинчастого хоріона жінок з фізіологічним перебігом вагітності, у яких пологи відбулися у термін 37-40 тижнів вагітності. Зазначені групи були обрані для порівняння параметрів із результатами в основних групах 1 та 2 (передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти в поєднанні зі ЗДАВ у терміни вагітності 29-32 та 33-36 тижнів) і встановлення «відправних» параметрів для основних груп спостереження. Окрім органометричного, гістологічного та гістохімічного методів дослідження застосовувався імуногістохімічний метод. З його допомогою було вивчено експресію гормонів (плацентарного лактогену та хоріонічного гонадотропіну), специфічного білка (плацентарної лужної фосфатази), ключового фактора передчасних пологів – ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази, Ki-67 позитивних структур, протеїнів Bcl-2 та Bax й уперше вивчено рівень експресії віментину у фібробластах та ендотеліоцитах в гестаційному аспекті.

5.1 Морфологічна та морфометрична характеристика хоріального дерева

Дослідження патології посліду розпочинали з макроскопічного вивчення варіанта прикріплення пуповини до плаценти, описової характеристики

материнської поверхні народженої плаценти з оцінкою особливостей будови котиледонів, типу розгалуження судин хоріальної пластинки, характеристики вільних плодових оболонок, подальше дослідження передбачало визначення основних органометричних параметрів посліду.

У термін гестації 37-40 тижнів нами було встановлено центральний тип прикріплення пуповини до плаценти у 17 спостереженнях (81%), парацентральный – у 3 (14,2%), маргінальний – в 1 спостереженні (4,8%). При фізіологічній вагітності плодова частина плаценти була вкрита гладенькими та блискучими, сіро-рожевого кольору оболонками. Будь-які дефекти на поверхні оболонок були відсутні. Вільні оболонки плаценти та пуповина – без особливостей. Нами встановлені такі співвідношення типів розгалуження судин у хоріальній пластинці: розсипний та проміжний типи (по 10 випадків – 95,2%), магістральний тип (1 випадок – 4,8%).

У всіх спостереженнях послід зберігав дископодібну форму. При фізіологічній вагітності нами макроскопічно зафіксовано явно нефункціонуючі зони в двох спостереженнях (9,6%). При фізіологічній вагітності материнська поверхня плацент характеризувалася переважно наявністю чітких меж між котиледонами, часто з утворенням глибоких борозен (19 спостережень – 90,5%). При макроскопічному дослідженні ми виявили поодинокі згустки крові, ділянки фібрину, поодинокі кальцинати, у вигляді чітко відмежованих ущільнень білувато-сірого кольору, діаметр яких коливався від 1,7 мм до 2,1 мм.

Гістологічно плаценти були звичаної будови, зміни виявлялися у вигляді інволютивно-деструктивних процесів, траплялися осередки кальцифікатів та інфаркти.

Основні просторові параметри плаценти при фізіологічній вагітності та передчасних пологах у термін 29-32 та 33-36 тижнів з нормальними темпами розвитку хоріального дерева без залізодефіцитної анемії вагітних продемонстровані у таблиці 5.1.

Таблиця 5.1 – Органометричні просторові параметри плаценти при фізіологічній вагітності та передчасних пологах у термін гестації 29-32 ти 33-36 тижнів з нормальними темпами розвитку хоріального дерева без залізодефіцитної анемії вагітних ($M \pm m$)

Групи дослідження	Маса плаценти (г)	Товщина плаценти (см)	Площа материнської поверхні (см ²)	Об'єм плаценти (см ³)
Фізіологічна вагітність (n=21)	486±6,43	2,37±0,052	212±6,1	489,9±6,3
29-32 тижні гестації				
Група 1В (порівняння) (n=21)	426±5,2 pФВ≤0,001 p2В≤0,001	2,11±0,080 pФВ=0,009 p2В≥0,05	168±3,8 pФВ≤0,001 p2В≤0,001	356±7,4 pФВ≤0,001 p2В≤0,001
33-36 тижнів гестації				
Група 2В (порівняння) (n=21)	465±3,9 pФВ=0,008	2,28±0,040 pФВ≥0,05	196±2,4 pФВ=0,01	448±6,2 pФВ≤0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2В – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

У плацентах жінок з фізіологічним перебігом вагітності (37-40 тижнів) гістологічно переважала кількість термінальних «спеціалізованих», проміжних зрілих і термінальних ворсинок над іншими типами хоріальних ворсинок. Термінальні «спеціалізовані» хоріальні ворсинки були вкриті хоріальним епітелієм, характеризувались наявністю синцитіо-капілярних мембран. Строма термінальних «спеціалізованих» ворсинок була представлена щільно розташованими колагеновими волокнами; зустрічалися поодинокі фібробласти та макрофаги. Строма проміжних зрілих ворсинок складалася з дезорієнтованих тонких пучків сполучної тканини з окремими фібробластами та макрофагами.

Судини представлені множинними капілярами, артеріолами та венулами. При поперечному розрізі в термінальних ворсинках більша частина розрізу зайнята капілярами, а в проміжних зрілих капілярами зайнято не більше половини розрізу. Зони деструкції хоріального епітелію заміщені фібриноїдом, характер якого залежив від об'єму та локалізації пошкоджень ворсинок хоріону. Траплялися характерні для зрілої плаценти дисеміновані депозити перивільозного фібриноїду (рис. 5.1).

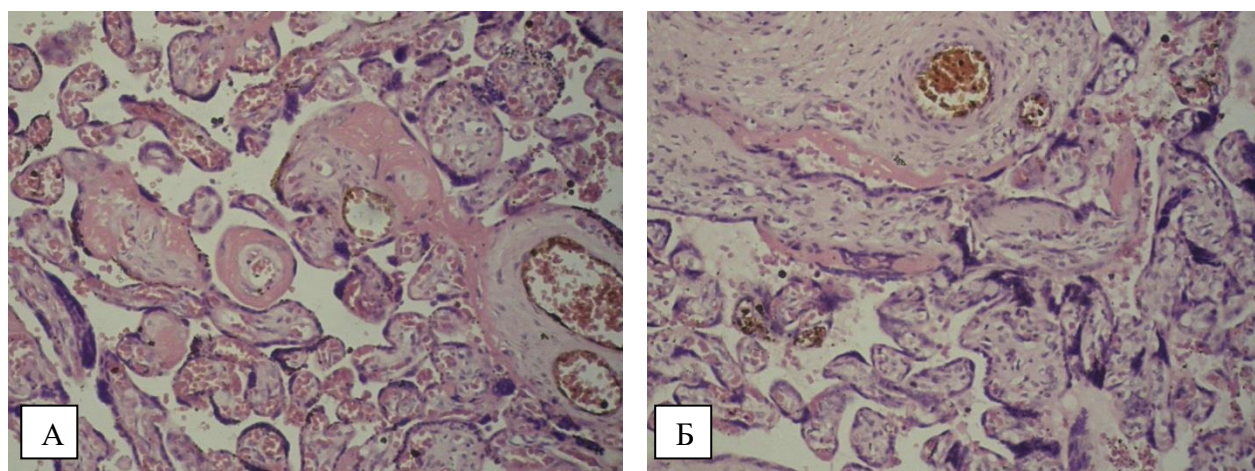


Рисунок 5.1 Хоріальне дерево плаценти при фізіологічній вагітності у 38 тижнів гестації. А – термінальні ворсинки, інтравільозний фібриноїд;

Б – проміжна зріла ворсинка, термінальні ворсинки. Гематоксилін та еозин.

Збільшення: Об. $10^{\times}$. Ок. $10^{\times}$

З метою морфометричної оцінки хоріального дерева при фізіологічній вагітності проведені дослідження гістологічних препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином. У таблиці 5.2 надані результати обрахунку різних типів хоріальних ворсинок при фізіологічній вагітності у 37-40 тижнів вагітності (група контролю) у вигляді відсоткового співвідношення різних типів хоріальних ворсинок. Отримані параметри були відповідним пунктом для оцінки факту передчасності дозрівання хоріального дерева.

Таблиця 5.2 – Відсоткове співвідношення різних типів хоріальних ворсинок у групі контролю при фізіологічній вагітності ($M \pm m$)

Типи хоріальних ворсинок	Фізіологічна вагітність (n=21)
Стовбурові «ранні»	0,1±0,01
Стовбурові «пізні»	4,0±0,21
Трофобластичні та вільозні відростки	1,1±0,04
Мезенхімальні	0,4±0,02
Ембріональні	0,6±0,02
Проміжні незрілі	3,0±0,14
Проміжні зрілі	14,9±0,83
Термінальні	38,4±1,14
Термінальні «спеціалізовані»	37,5±1,16

З наведених даних видно, що для фізіологічної вагітності, тобто для терміну гестації 37-40 тижнів, характерним є домінування хоріальних ворсинок зрілої будови (термінальних, термінальних «спеціалізованих», проміжних зрілих, стовбурових «пізніх»), які в сумі становлять у середньому $94,8 \pm 1,18\%$. Перелічені типи хоріальних ворсинок не мали у стромі стромальних каналів, клітин Гофбауера, мезенхімоцитів, але містили у великій кількості фібробласти, сполучнотканинні волокна. Такі ворсинки були вкриті переважно СТ, клітини ЦТ зустрічалися зрідка (рис. 5.2).

Незрілі типи ворсинок характеризувалися відсутністю у стромі фібробластів та сполучнотканинних волокон, разом з тим наявністю в ній стромальних каналів, клітин Гофбауера, мезенхімоцитів, поверхня незрілих ворсинок вкрита або ЦТ (при фізіологічній вагітності це дуже рідкісний варіант), або одночасно двома шарами – ЦТ та СТ (найбільш поширений варіант для фізіологічної вагітності), або тільки СТ.

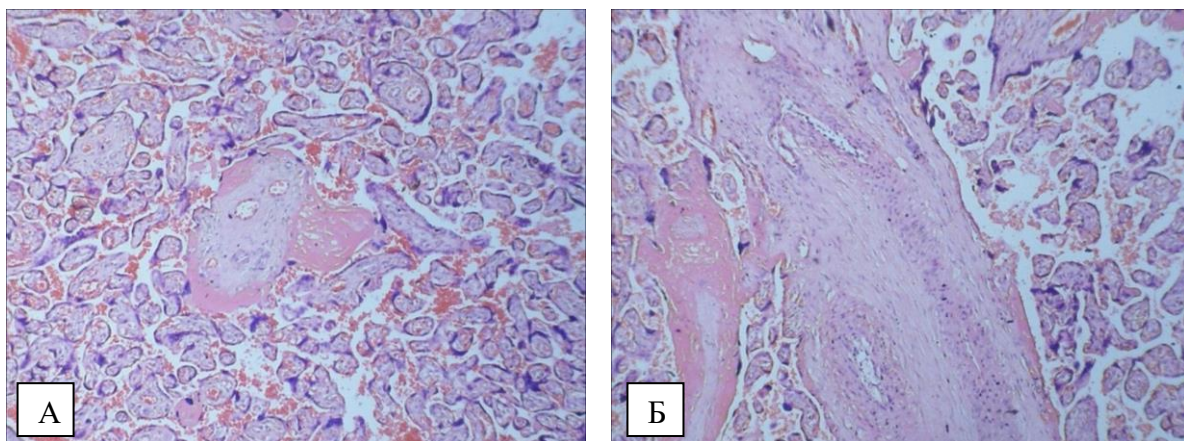


Рисунок 5.2 Хоріальне дерево плаценти при фізіологічній вагітності у 40 тижнів гестації. А – термінальні та проміжні ворсинки; Б – стовбурова «пізня» ворсинка. Гематоксилін та еозин.

Збільшення: Об.4^x. Ок.10^x

Під час вивчення плодової частини плацент у термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів нами встановлено, що вона була вкрита гладенькими, блискучими, сіро-рожевого кольору оболонками, будь-які дефекти на поверхні оболонок були відсутні. Вільні оболонки плодової частини плаценти та пуповина були без особливостей. При визначенні типу розгалуження судин у хоріальній пластинці встановлені наступні співвідношення: розсипний та проміжний типи (по 19 випадків – 90,5%), магістральний тип (4 випадків – 9,5%).

Центральний тип прикріплення пуповини до плаценти зафіксовано у 28 спостереженнях (66,7%), парацентральный – у 11 (26,2%), маргінальний – у 3 спостереженнях (7,1%). У всіх спостереженнях плацента зберігала дископодібну форму. При виконанні паралельних пластинчастих розрізів тканини плаценти макроскопічно явно не функціонуючі ділянки плаценти були відсутні.

Материнська поверхня переважної більшості плацент в 29-32 тижні гестації характеризується достатньо гладеньким рисунком без особливо вираженого розділення на котиледони. У термін вагітності 33-36 тижнів візуально відмічалася тенденція до заглиблення борозен між котиледонами та появою в переважній більшості плацент чітких меж між котиледонами.

При макроскопічному вивченні спостерігалися поодинокі згустки крові, ділянки фібрину, поодинокі кальцинати у вигляді чітко відмежованих ущільнень білувато-сірого кольору, діаметр яких в середньому коливався від 1,2 мм до 1,5 мм. У термін 29-32 тижнів вагітності гістологічно переважали проміжні зрілі та термінальні хоріальні ворсинки, інколи стовбурові хоріальні ворсинки (рис. 5.3).

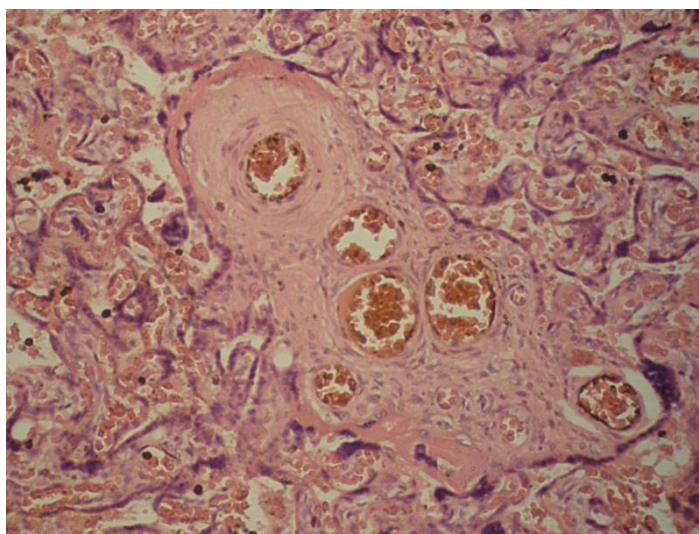


Рисунок 5.3 Стовбурова ворсинка хоріального дерева плаценти з нормальним дозріванням без залізодефіцитної анемії вагітних у термін 30 тижнів гестації.

Гематоксилін та еозин. Збільшення: Об.10^x. Ок.10^x

Проміжні зрілі хоріальні ворсинки характеризувалися переважанням СТ над ЦТ. Строма представлена клітинами фібробластичного типу, наявністю волокон, інколи зустрічалися клітини Гофбауера, стромальні канали рідкісні й траплялися в окремих ворсинках. У цілому строма набуває характеристики щільної. Де-не-де з'являються термінальні «спеціалізовані» хоріальні ворсини – із синцитіокапілярними мембранами. У термін гестації 33-36 тижнів гістологічно переважають термінальні ворсинки. Строма термінальних ворсинок щільна, капіляри переважно розширені. У термінальних хоріальних ворсинках відзначається не тільки збільшення кількості капілярів, але і

переміщення частини з них ближче до епітелію ворсин, що скорочує дистанцію між плодовим та материнським кровообігом.

У таблиці 5.3 надані результати обрахунку різних типів хоріальних ворсинок у групах порівняння 1В та 2В у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів.

Таблиця 5.3 – Відсоткове співвідношення різних типів хоріальних ворсинок у групах порівняння 1В та 2В у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів ($M \pm m$)

	Термін гестації	
	29-32 тижні гестації	33-36 тижні гестації
Типи хоріальних ворсинок	Група 1В (порівняння) (n=21)	Група 2В (порівняння) (n=21)
Стовбурові «ранні»	2,4±0,21	0,2±0,01
Стовбурові «пізні»	5,5±0,34	4,8±0,12
Трофобластичні та вільозні відростки	3,1±0,22	2,0±0,10
Мезенхімальні	0,6±0,02	0,4±0,02
Ембріональні	1,4±0,08	1,2±0,03
Проміжні незрілі	9,6±0,38	3,1±0,18
Проміжні зрілі	37,6±0,92	20,4±0,78
Термінальні	36,0±0,90	58,8±0,99
Термінальні «спеціалізовані»	3,8±0,14	9,1±0,43

Із представлених усереднених показників в обох групах спостереження ступінь зрілості хоріального дерева не досягав рівня фізіологічної вагітності ($p \leq 0,001$).

Описані органометричні особливості плацент при передчасних пологах з нормальними темпами розвитку хоріону без ЗДАВ у 29-32 та 33-36 тижнів гестації проілюстровані на рисунках 5.4 та 5.5.

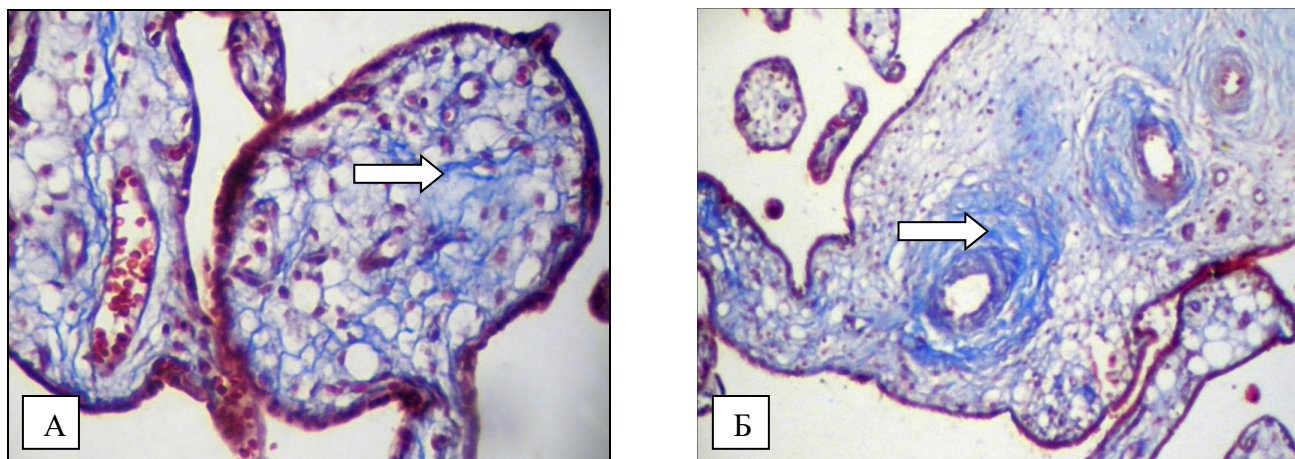


Рисунок 5.4 Хоріальне дерево плаценти з нормальним дозріванням без залізодефіцитної анемії вагітних, волокнистий компонент в стромі ворсинок. А – проміжні незрілі ворсинки, 30 тижнів гестації; Б – незрілі стовбурові ворсинки, 31 тиждень гестації. Методика за Слінченком.

Збільшення: А – Об.40^x, Ок.10^x; Б – Об.4^x, Ок.10^x

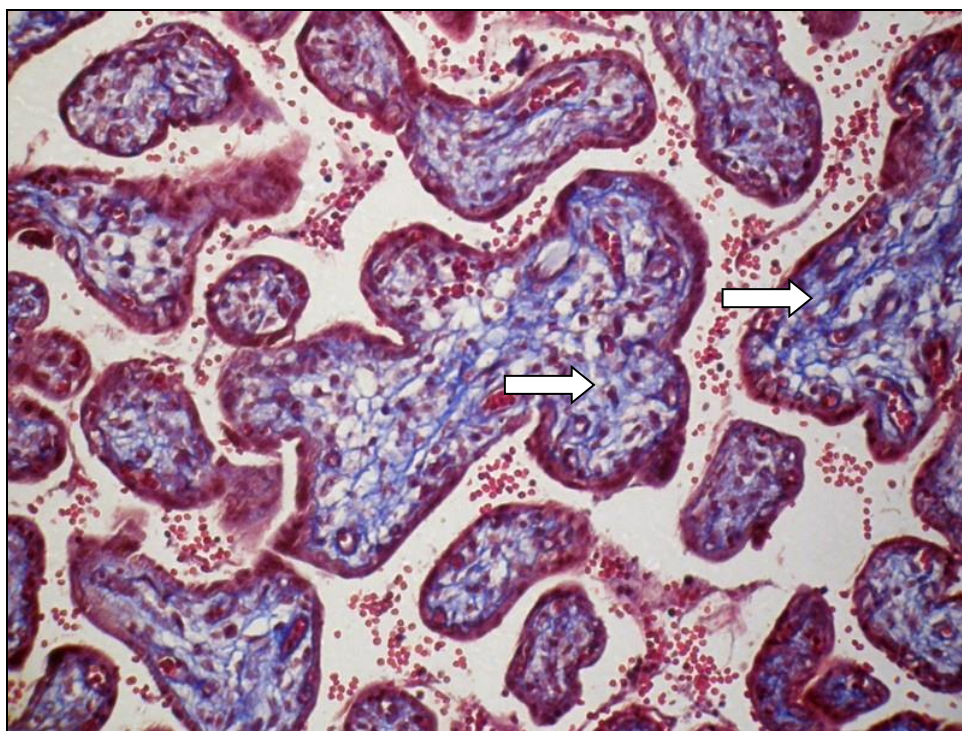


Рисунок 5.5 Хоріальне дерево плаценти з нормальним дозріванням без залізодефіцитної анемії вагітних у 33 тижні гестації, волокнистий компонент в стромі ворсинок. Проміжні незрілі та зрілі ворсинки. Методика за Слінченком. Збільшення: Об.20^x. Ок.10^x

5.2 Імуногістохімічне дослідження плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок

У науковій літературі зазначено, що продукція плацентарного лактогену зазвичай зростає з терміном фізіологічного перебігу гестації [43]. Дані таблиці 5.4 цілком це підтверджують.

Таблиця 5.4 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,424 \pm 0,0028$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$0,342 \pm 0,0020$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$ $p_{2\text{В}} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$0,368 \pm 0,0022$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$

Примітка. $p_{\text{ФВ}}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю. $p_{2\text{В}}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

При порівнянні фізіологічної вагітності та передчасних пологів (29-32 та 33-36 тижнів гестації) з нормальним дозріванням хоріального дерева без ЗДАВ зафіксовані більші показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген у трофобласті хоріальних ворсинок відповідно в більші терміни гестації ($p < 0,001$).

Експресія плацентарного лактогену в хоріальних ворсинках плаценти у жінок з передчасними пологами проілюстрована з допомогою рисунків 5.6. та 5.7.

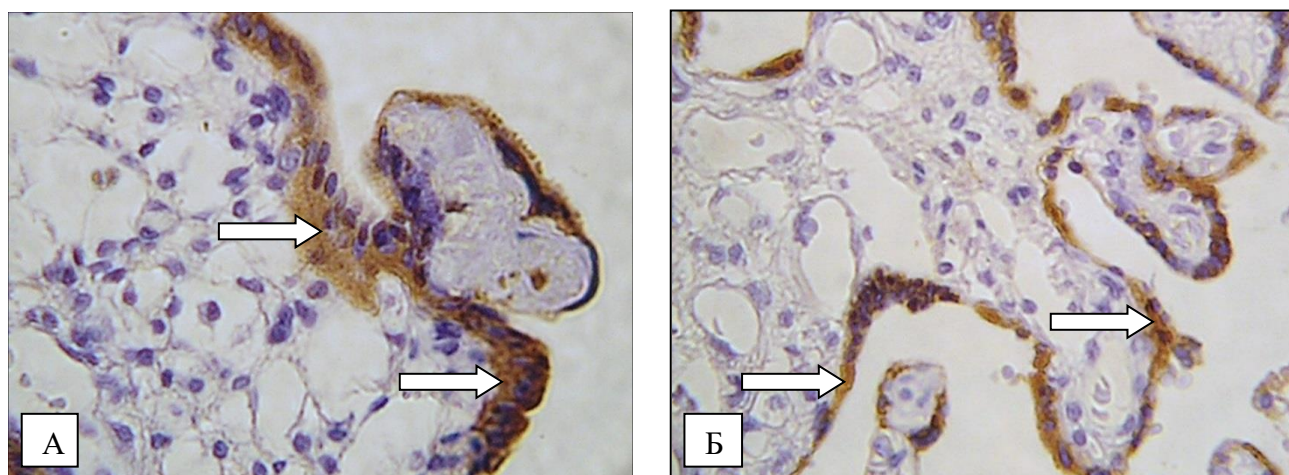


Рисунок 5.6 Експресія плацентарного лактогену в хоріальних ворсинках плаценти з нормальним дозріванням у жінок без залізодефіцитної анемії (А – 34 тижні гестації; Б – 31 тиждень гестації). Імуногістохімічне типкування первинними антитілами до плацентарного лактогену (Polyclonal Rabbit Anti-Human Placental Lactogen). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

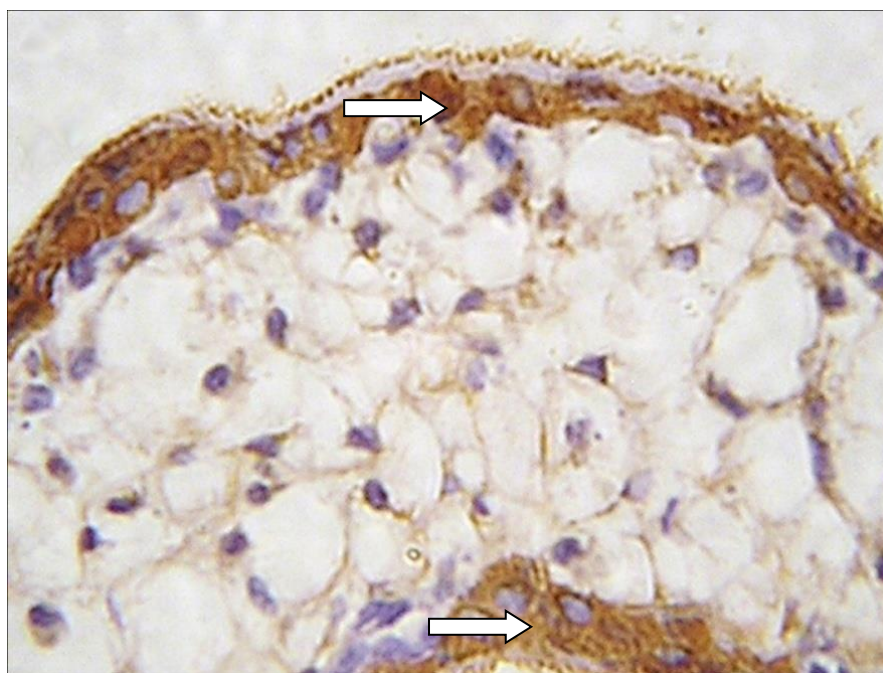


Рисунок 5.7 Експресія плацентарного лактогену в хоріальних ворсинках плаценти у жінок при фізіологічній вагітності, 40 тижнів гестації. Імуногістохімічне типкування первинними антитілами до плацентарного лактогену (Polyclonal Rabbit Anti-Human Placental Lactogen).

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Результати оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти у два терміни гестації представлені у таблиці 5.5.

Таблиця 5.5 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти у два терміни гестації ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,214 \pm 0,0023$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$0,318 \pm 0,0027$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2В} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$0,287 \pm 0,0022$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2В}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

Синтез хоріонічного гонадотропіну здійснюється клітинами трофобласта після імплантації ембріона з 6-8 дня після запліднення яйцеклітини і триває протягом усієї вагітності [40, 72]. При нормальному перебігу вагітності в перші тижні вміст хоріонічного гонадотропіну подвоюється кожні 2 дні. Пік хоріонічного гонадотропіну припадає на 10-11 тиждень вагітності, потім його вміст починає повільно знижуватися. Отримані нами результати в поданих групах спостереження відображають таку закономірність.

Зображення експресії гормону в хоріальних ворсинках у жінок з фізіологічною вагітністю та передчасними пологами у два різні терміни 29-32 та 33-36 тижнів гестації проілюстроване з допомогою рисунків 5.8 та 5.9.

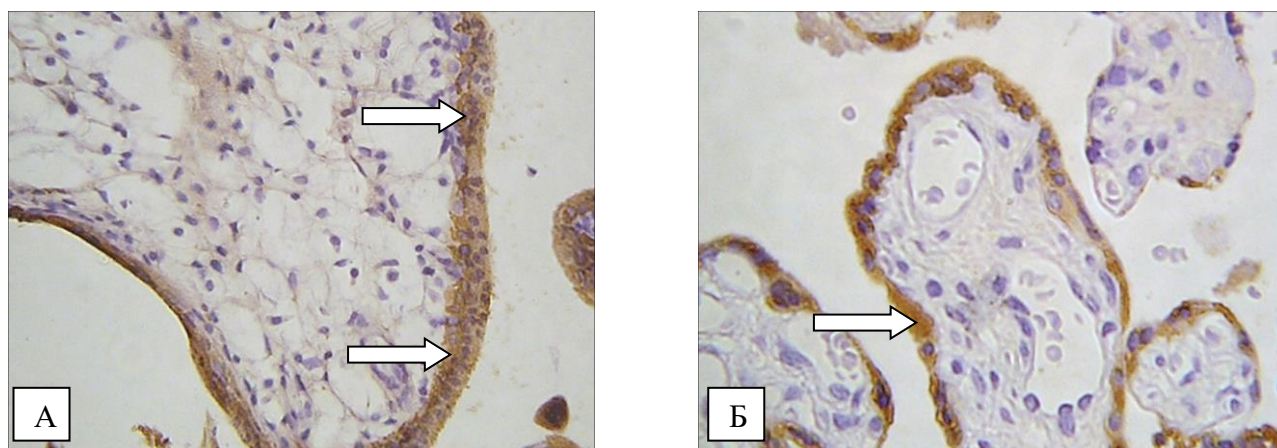


Рисунок 5.8 Експресія хоріонічного гонадотропіну в хоріальних ворсинках плаценти з нормальним дозріванням у жінок без залізодефіцитної анемії (А – 35 тижнів гестації; Б – 30 тижнів гестації). Імуногістохімічне типкування первинними антитілами до хоріонічного гонадотропіну (Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin (hCG)). Збільшення: Об.20^x, Ок.10^x

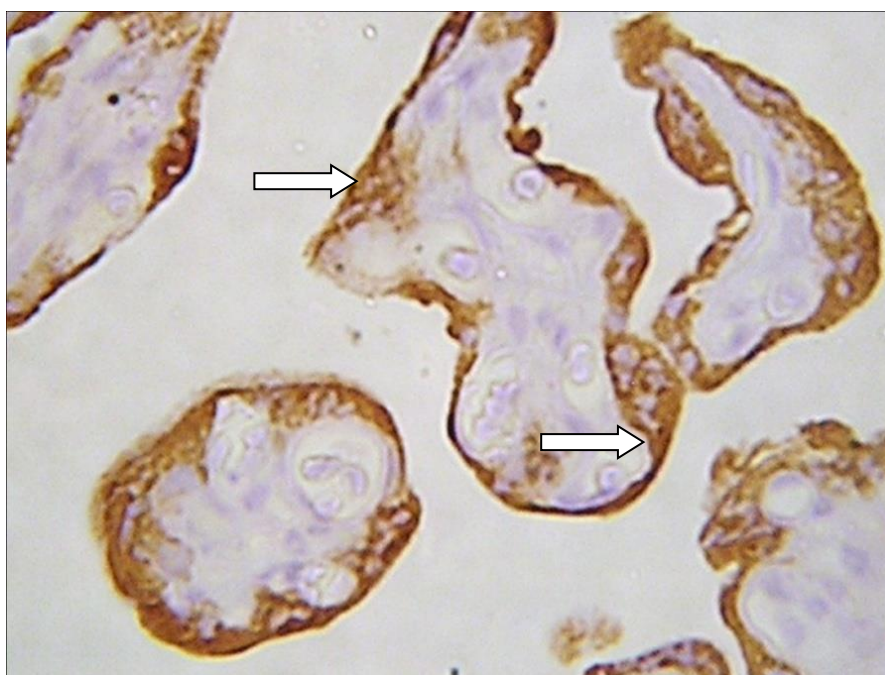


Рисунок 5.9 Експресія хоріонічного гонадотропіну в хоріальних ворсинках плаценти у жінок при фізіологічній вагітності, 39 тижнів гестації.

Імуногістохімічне типкування первинними антитілами до хоріонічного гонадотропіну (Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin (hCG)).

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

5.3 Гістохімічне та імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази

Плацентарна лужна фосфатаза як імуногістохімічним методом, так і гістохімічним методом визначалася винятково у трофобласті хоріальних ворсинок. Імуногістохімічне забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу в трофобласті хоріальних ворсинок мало дрібно-гранулярний характер з доволі рівномірним розташуванням у цитоплазмі трофобласта, тому вимірювання оптичної густини імуногістохімічного забарвлення за допомогою зондового методу були найбільш придатними. Експресія плацентарної лужної фосфатази в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок в обох групах спостереження проілюстрована з допомогою рисунка 5.10.

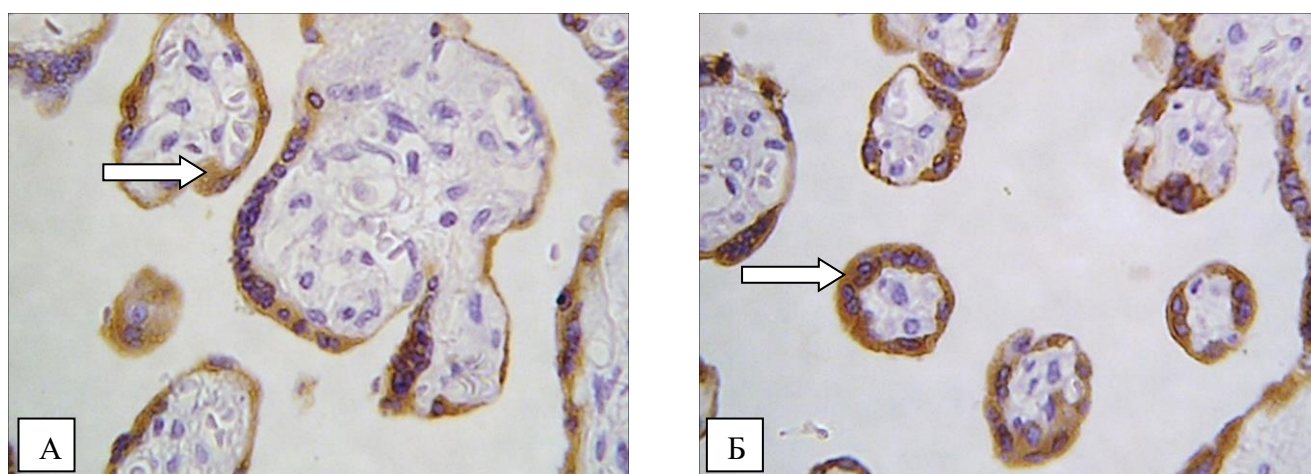


Рисунок 5.10 Експресія плацентарної лужної фосфатази в хоріальних ворсинках плаценти із нормальним дозріванням у жінок без залізодефіцитної анемії (А – 29 тиждень гестації; Б – 34 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з моноклональними антитілами (Clone 8A9) і забарвленням ядер гематоксилином Майєра. Збільшення: Об.40^х, Ок.10^х

Кількісні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок представлені в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні плацентарної лужної фосфатази ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,348 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$0,185 \pm 0,0011$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2В} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$0,208 \pm 0,0012$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2В}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

З наведених даних видно, що при фізіологічній вагітності оптична густина імуногістохімічного забарвлення специфічного білка – плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок є значно більшою, ніж в інших групах спостереження ($p < 0,001$). Водночас, якщо порівняти між собою два терміни гестації (29-32 та 33-36 тижнів), то можна зауважити, що в цілому є тенденція до зростання оптичної густини імуногістохімічного забарвлення в трофобласті хоріальних ворсинок з наростанням терміну вагітності. Таким чином, треба підкреслити, що кількісні показники плацентарної лужної фосфатази вільозного трофобласта віддзеркалюють ступінь дозрівання хоріального дерева.

Забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення проілюстроване на рисунках 5.11 та 5.12.

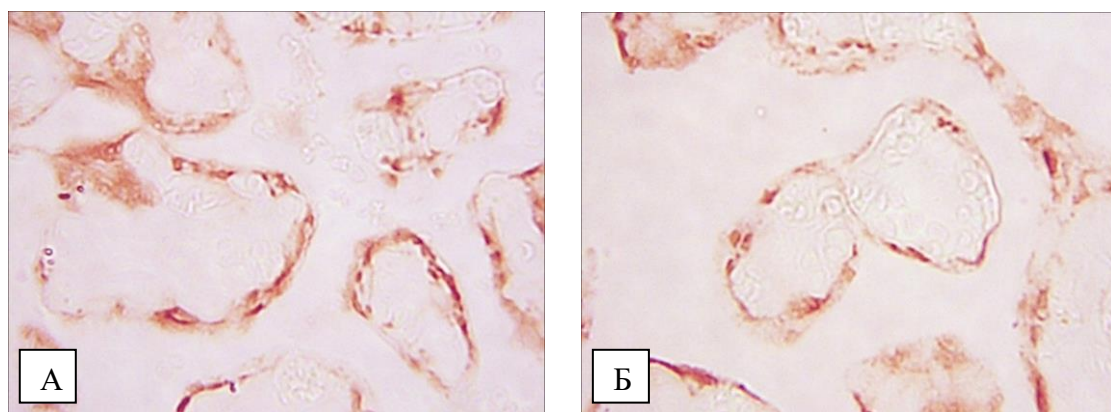


Рисунок 5.11 Зростання ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок без залізодефіцитної анемії вагітних (А – 36 тижнів гестації; Б – 31 тиждень гестації). Гістохімічна методика методом азосполучення. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

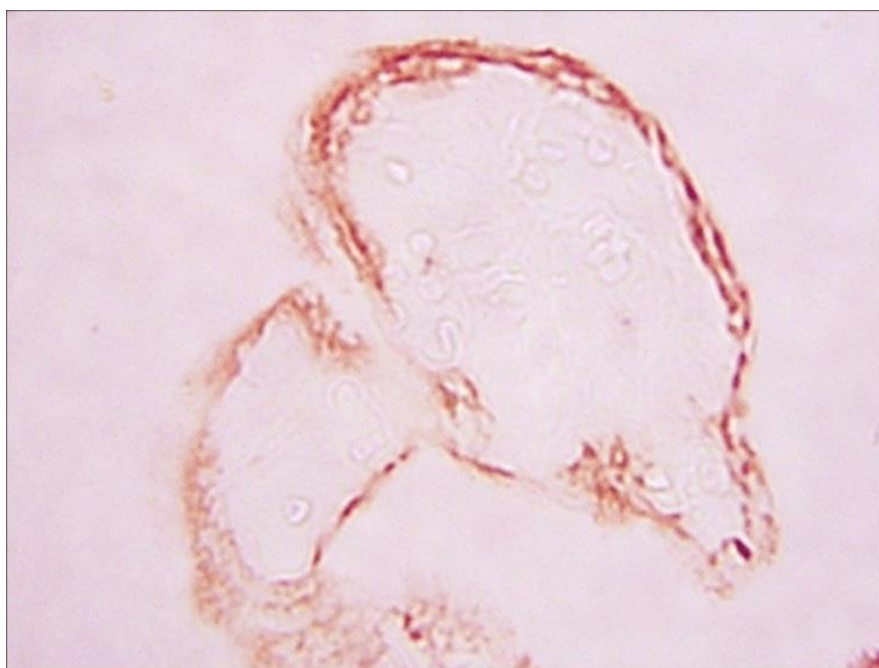


Рисунок 5.12 Ферментативна активність плацентарної лужної фосфатази цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок плаценти у жінок при фізіологічній вагітності, 40 тижнів гестації. Гістохімічна методика методом азосполучення. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Дані про оптичну густину імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення наведені у таблиці 5.7.

Таблиця 5.7 – Оптична густина забарвлення цитоплазми трофобласті хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,234 \pm 0,0013$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$0,121 \pm 0,0013$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2В} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$0,174 \pm 0,0012$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2В}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

З наведених даних видно, що найбільші показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази відзначалися при фізіологічній вагітності.

Простежується тенденція зростання з терміном гестації активності плацентарної лужної фосфатази цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок плаценти ($p < 0,001$).

5.4 Імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11 β -HSD-2)

Відомо, що фермент 11 β -HSD-2 запускає механізм природньої стимуляції пологів і набуває максимального свого піку в пізні терміни вагітності [230]. У нашому дослідженні встановлення рівня даного ферменту слугувало «відправним» пунктом при зіставленні з групами порівняння 1А та 2А (передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти у терміни вагітності 29-32 та 33-36 тижнів). Отримані показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на 11 β -HSD-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти зазначені у таблиці 5.8.

Таблиця 5.8 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогеназу в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,285 $\pm$ 0,0012
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	0,178 $\pm$ 0,0017 pФВ <0,001 p2В <0,001
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	0,198 $\pm$ 0,0016 pФВ <0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2В – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

Експресія ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти для вивчених термінів дослідження, виявлене з допомогою імуногістохімічної методики, проілюстроване на рисунках 5.13 та 5.14.

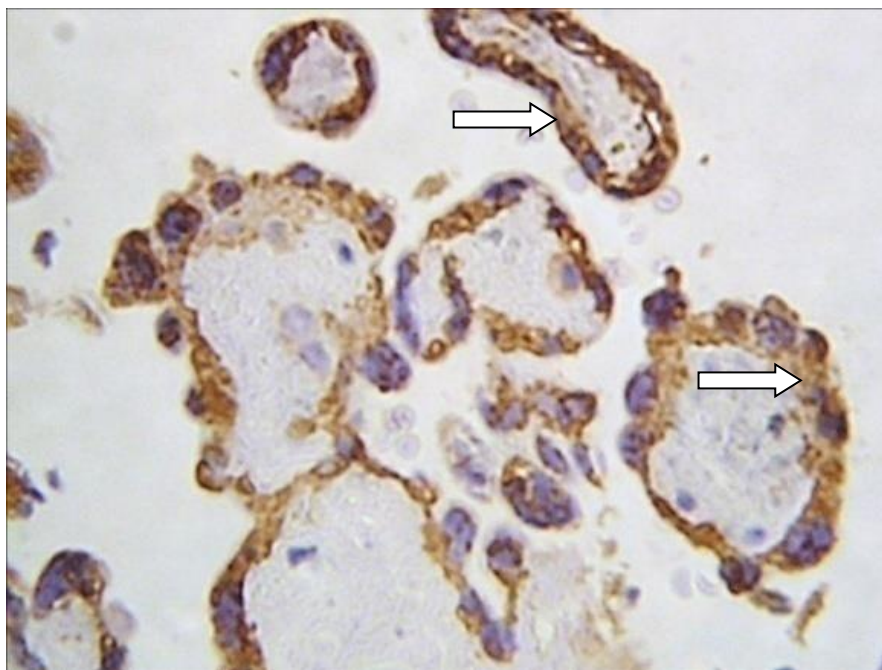


Рисунок 5.13 Експресія ферменту 11β -HSD-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти у жінок з фізіологічною вагітністю, 38 тижнів гестації. Імуногістохімічна методика з застосуванням Polyclonal Rabbit Anti-Human 11β -HSD-2 з дозобарвленням гематоксилином Майєра. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

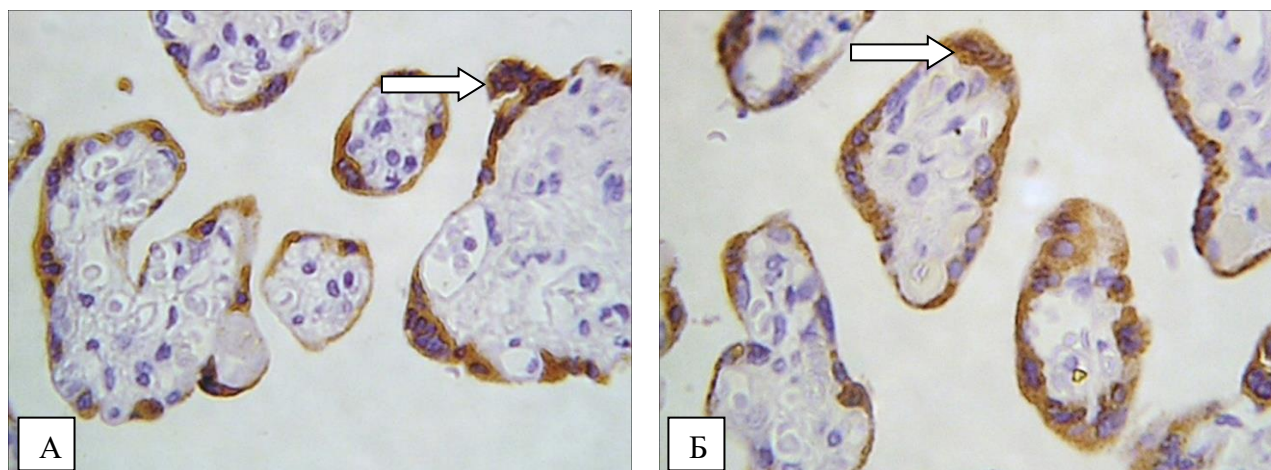


Рисунок 5.14 Експресія ферменту 11β -HSD-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок без залізодефіцитної анемії (А – 32 тижнів гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням Polyclonal Rabbit Anti-Human 11β -HSD-2 з дозобарвленням гематоксилином Майєра. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Таким чином, імуногістохімічним методом було встановлено, що для обох вивчених термінів гестації в групах жінок без ЗДАВ, коли будова хоріального дерева плаценти відповідає терміну, показники 11 β -HSD-2 значно менші порівняно з фізіологічною вагітністю ($p < 0,001$). Водночас спостерігається тенденція до поступового підвищення показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на 11 β -HSD-2 з перебігом вагітності. На противагу ці ж показники, вочевидь, властиві зазначеним термінам вагітності.

5.5 Дослідження експресії віментину у структурах хоріальних ворсинок плаценти

Дослідження експресії віментину судинного русла трофобласта є цінним інструментом для вивчення ПН [249] та зручним молекулярним фактором зрілості клітин, дає змогу оцінити активність ангіогенезу в тканині та прогнозувати розвиток судинної системи [5]. Нами було досліджено оптичну густину імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах та ендотеліюцитах строми хоріальних ворсинок плаценти.

Встановлення рівня віментину в названих групах спостереження слугує розумінню процесів, які відбуваються у структурах хоріальних ворсинок плаценти з плином вагітності.

Оптичну густину імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах ХВ плаценти з нормальним дозріванням хоріального дерева представлено у таблиці 5.9. Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах є найбільш високими при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$).

Для рівнозначних за патологією груп дослідження оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин була вищою у термін гестації 33-36 тижнів порівнянно з терміном вагітності 29-32 тижні ($p < 0,001$).

Таблиця 5.9 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,244 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$0,208 \pm 0,0013$ $p_{\Phi B} < 0,001$ $p_{2B} < 0,001$
33-36 тижні гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$0,221 \pm 0,0012$ $p_{\Phi B} < 0,001$

Примітка. $p_{\Phi B}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p_{2B} – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

Дані оптичної густини імуногістохімічного забарвлення експресії віментину в ендотелії хоріальних ворсинок плаценти наведені у таблиці 5.10.

Таблиця 5.10 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у ендотелії хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,448 \pm 0,0029$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$0,365 \pm 0,0027$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2В} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$0,390 \pm 0,0028$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2В}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

Щодо оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин в ендотелії судин хоріальних ворсинок плаценти, то з поданих вище даних видно, що найбільш високий показник оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин в ендотеліоцитах був визначений при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$).

Прослідковується певна закономірність: оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин вища у термін гестації 33-36 тижнів порівняно з терміном вагітності 29-32 тижні ($p < 0,001$).

Зображення експресії віментину у фібробластах та ендотелії хоріальних ворсинок плаценти проілюстроване на рисунках 5.15 та 5.16.

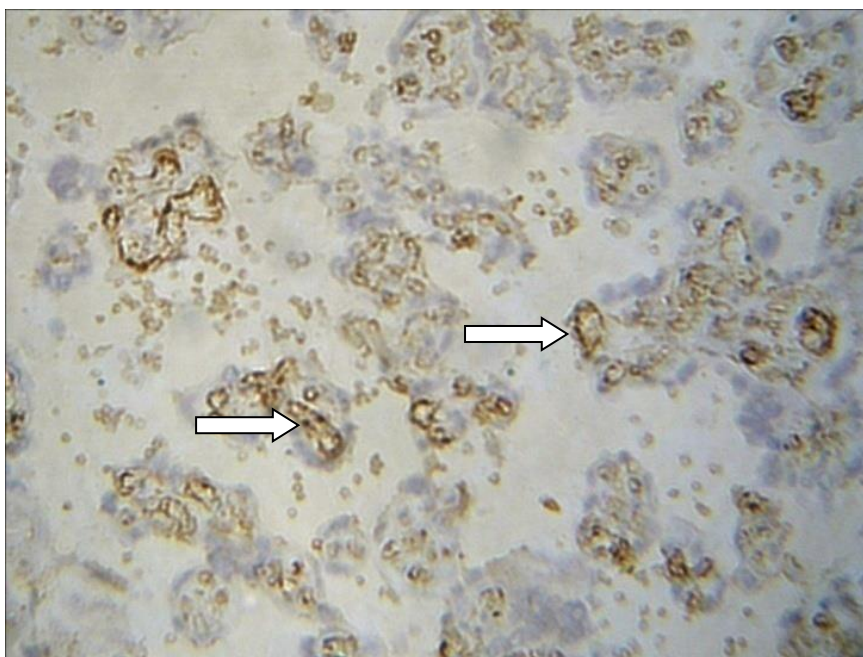


Рисунок 5.15 Експресія віментину у фібробластах та ендотелії хоріальних ворсинок плаценти при фізіологічній вагітності, 39 тижнів гестації. Імуногістохімічна методика з застосуванням моноклональних антитіл (clone V9). Збільшення: Об.20^x, Ок.10^x

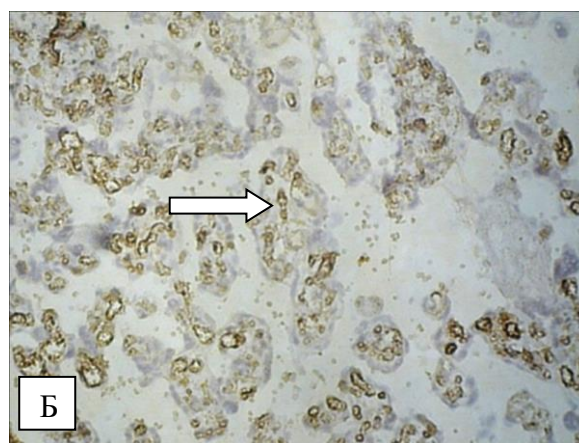
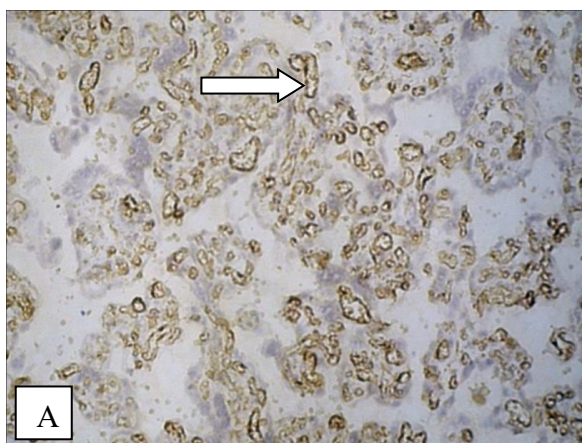


Рисунок 5.16 Експресія віментину у фібробластах та ендотелії хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок без задізодефіцитної анемії (А – 30 тижнів гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням моноклональних антитіл (clone V9). Збільшення: Об.20^x, Ок.10^x

5.6 Дослідження обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти

Дослідження було проведено за допомогою нінгідриново-шифововської реакції на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikava, що дає змогу виявити альтерацію трофобласта. Дані про оптичну густину забарвлення на вільні аміногрупи білків наведені у таблиці 5.11.

Таблиця 5.11 – Оптична густина гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava в цитоплазмі трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,164±0,0014
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	0,193±0,0015 pФВ<0,001 p2В<0,05
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	0,198±0,0016 pФВ<0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2В – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

З наведених даних видно, що усереднені показники оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків для обох термінів вагітності перевищують дані при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Отримані дані вказують на те, що при нормальному дозріванні хоріального дерева в трофобласті хоріальних ворсинок присутні процеси обмеженого протеолізу, тобто відбувається альтерація трофобласта, яку не видно при застосуванні забарвлення гематоксиліном та еозином. З цих показників випливає, що процеси обмеженого протеолізу при нормальному розвитку хоріального дерева плаценти знижуються з

плином вагітності ($p < 0,001$). Зображення гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків проілюстроване на рисунках 5.17 та 5.18.

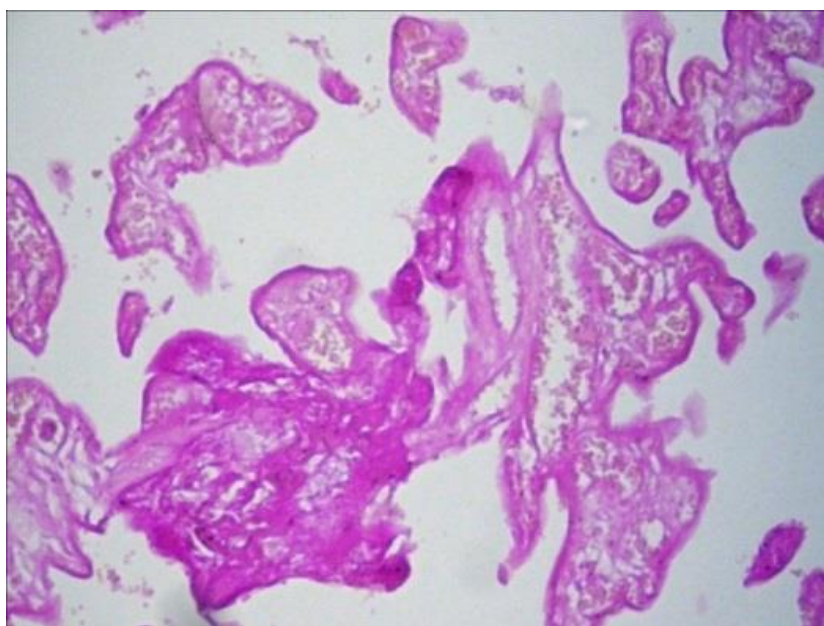


Рисунок 5.17 Експресія вільних аміногруп білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з фізіологічною вагітністю у 39 тижнів гестації. Нінгідриново-шиффовська гістохімічна реакція на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

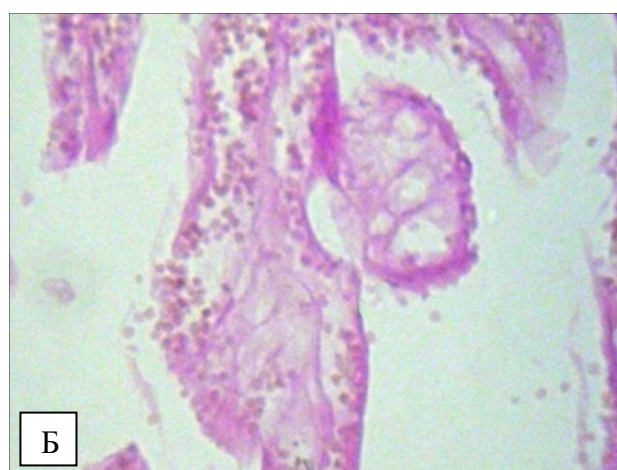
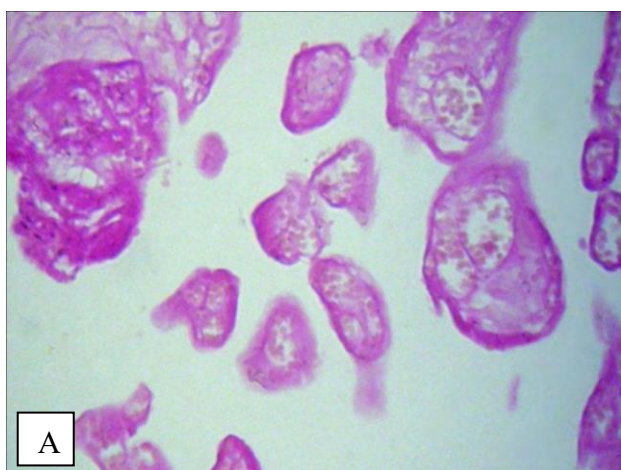


Рисунок 5.18 Експресія вільних аміногруп білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок без залізодефіцитної анемії (А – 29 тижнів гестації; Б – 35 тижнів гестації). Нінгідриново-шиффовська гістохімічна реакція на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

5.7 Дослідження окислювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти

Метою дослідження було виявити різновид альтерації структур, механізм якого пов'язаний зі зростанням рівня вільнорадикальних процесів. Дані про середні величини коефіцієнту R/V наведені у таблиці 5.12.

Таблиця 5.12 – Коефіцієнт R/V при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo в трофобласті хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Коефіцієнт R/V при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo
Фізіологічна вагітність	21	$1,02 \pm 0,012$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$1,14 \pm 0,018$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2В} > 0,05$
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$1,13 \pm 0,017$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. рФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; р2В – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

З наведених даних видно, що усереднені показники коефіцієнту R/V при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo для обох термінів вагітності перевищують дані при фізіологічній вагітності. Отримані показники для двох термінів вагітності між собою статистично не відрізняються ($p > 0,05$). Зазначені зміни вказують на те, що при нормальному дозріванні хоріального дерева відбувається альтерація трофобласта, яка розвивається за механізмом вільнорадикального ушкодження.

Результати забарвлення методикою за Mikel Calvo на виявлення «кислих» та «основних» білків при гістохімічному дослідженні проілюстровані за допомогою рисунків 5.19 та 5.20.

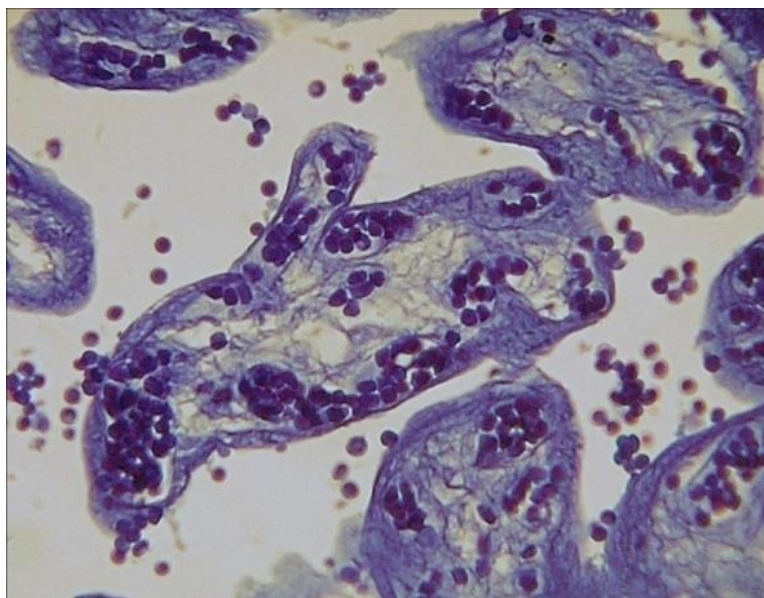


Рисунок 5.19 Хоріальне дерево плаценти при фізіологічній вагітності, 39 тижнів гестації, переважання «основних» білків над «кислими». Гістохімічна реакція на «кислі» та «основні» білки бромфеноловим синім за Mikel Calvo.

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

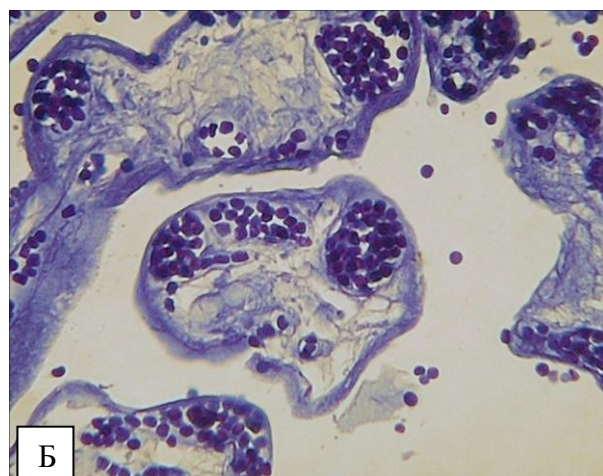
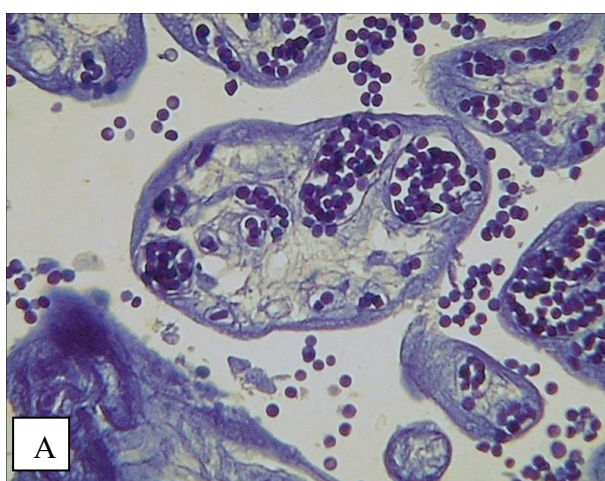


Рисунок 5.20 Хоріальне дерево плаценти з нормальним дозріванням у жінок без залізодефіцитної анемії, переважання «основних» білків над «кислими» (А – 30 тижнів гестації; Б – 35 тижнів гестації). Гістохімічна реакція на «кислі» та «основні» білки бромфеноловим синім за Mikel Calvo.

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

5.8 Дослідження регуляції проліферативної активності та відмирання трофобласта

Відомо, що білок Ki-67 дає уявлення про проліферативну активність клітин. Найнижчий його рівень характерний для клітин, які перебувають у G0-фазі, коли клітина не ділиться, і різко зростає у проліферуючих клітинах [123, 232]. Отримані результати Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок наведені у таблиці 5.13.

Таблиця 5.13 – Ki-67-позитивні ядра в трофобласті хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Ki-67-позитивні ядра в трофобласті хоріальних ворсинок (‰)
Фізіологічна вагітність	21	$3 \pm 0,1$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$15 \pm 0,9$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$ $p_{2\text{В}} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$9 \pm 0,6$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$

Примітка. рФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; р2В – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

Результати застосування імуногістохімічного дослідження на проліферативний антиген Ki-67 показали, що при фізіологічній вагітності в хоріальних ворсинках Ki-67-позитивні ядра трофобласта трапляються нечасто у зіставленні для груп порівняння 1В та 2В ($p < 0,001$). Причому в термін гестації 29-32 тижні фіксуються більш високі показники ($p < 0,05$), ніж у термін 33-36 тижнів. Загалом цей факт відповідає відомим даним про темпи проліферативних процесів протягом вагітності – вищі темпи проліферації у більш ранні терміни вагітності [55, 120].

Отримані зображення Кі-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок проілюстровані за допомогою рисунків 5.21 та 5.22.

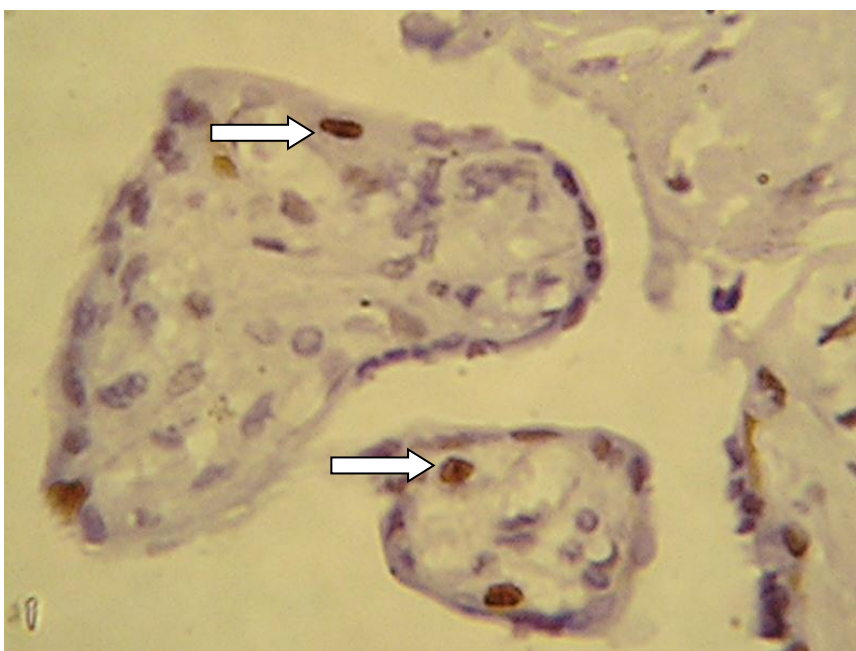


Рисунок 5.21 Проліферативна активність трофобласта хоріального дерева при фізіологічній вагітності, 38 тижнів гестації. Імуногістохімічне дослідження експресії маркера проліферуючих клітин Кі-67. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

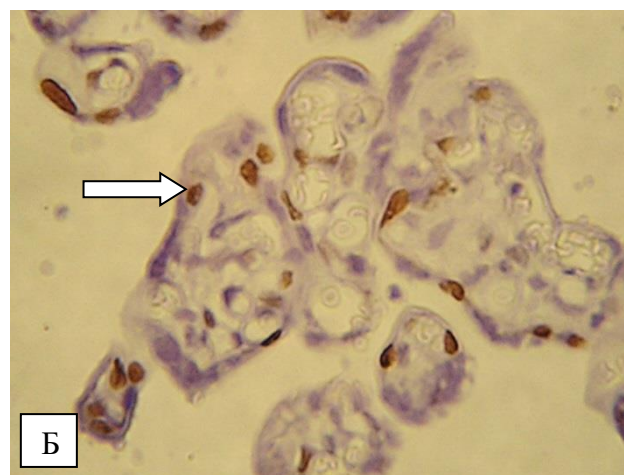
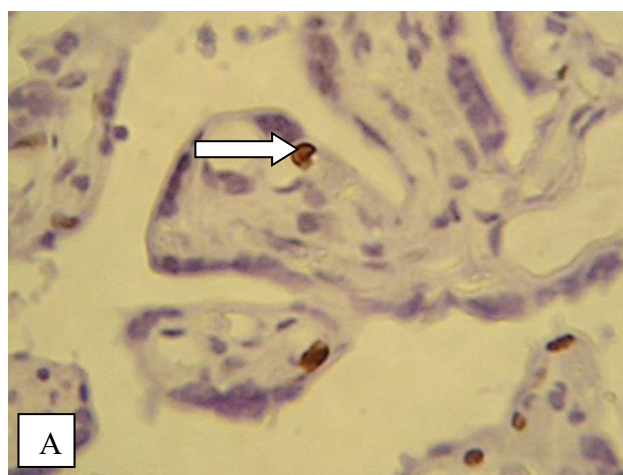


Рисунок 5.22 Проліферативна активність трофобласта хоріального дерева плаценти при нормальному дозріванні у жінок без залізодефіцитної анемії (А – 30 тижнів гестації; Б – 34 тижнів гестації). Імуногістохімічне дослідження експресії маркера проліферуючих клітин Кі-67.

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Розташовувалися Ki-67-позитивні ядра винятково поза територією СТ, в окремих одно- або двоядерних клітинах, локалізація яких відповідає території вільозного ЦТ. Усереднені показники імуногістохімічного дослідження протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок для обох термінів спостереження зазначені у таблиці 5.14.

Таблиця 5.14 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на протеїн Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,326 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$0,324 \pm 0,0017$ $p_{ФВ} > 0,05$ $p_{2В} > 0,05$
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$0,327 \pm 0,0016$ $p_{ФВ} > 0,05$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2В}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

Імуногістохімічне дослідження протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок показало, що при фізіологічній вагітності відмічається високий рівень цього антигену, на що вказує висока інтенсивність забарвлення.

Щодо порівняння обох періодів гестації між собою та з фізіологічною вагітністю, розбіжностей серед показників не знайдено ($p > 0,05$). Таким чином, протиапоптотичний протеїн Bcl-2 має високу інтенсивність забарвлення при фізіологічній вагітності та у два досліджувані терміни вагітності.

Експресія протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок представлена на рисунках 5.23 та 5.24.

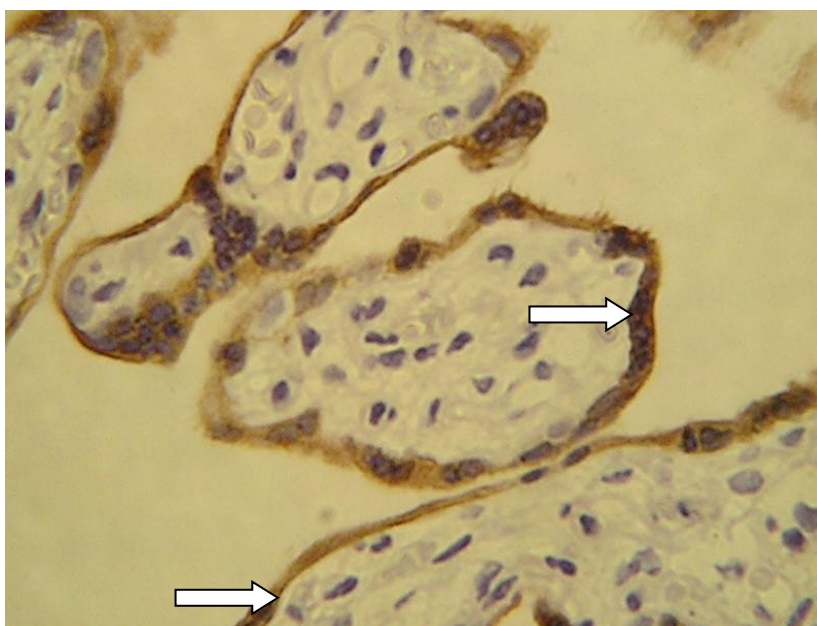


Рисунок 5.23 Експресія протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок при фізіологічній вагітності, 39 тижнів гестації. Імуногістохімічна методика з застосуванням антитіл протиапоптотичного протеїну Bcl-2 (Clone 124). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

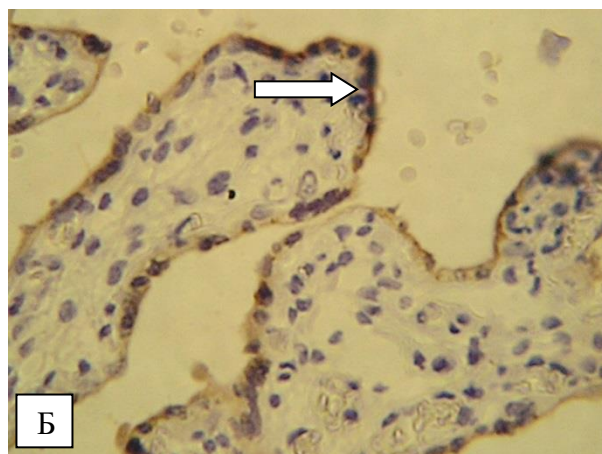


Рисунок 5.24 Експресія протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок без ЗДАВ (А – 29 тижнів гестації; Б – 36 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням антитіл протиапоптотичного протеїну Bcl-2 (Clone 124).

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Забарвлення має відносно рівномірний характер у різних типах хоріальних ворсинок та фіксується у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти.

Дані оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок зазначені у таблиці 5.15.

Таблиця 5.15 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,264 \pm 0,0015$
29-32 тижні гестації		
Група 1В (порівняння)	21	$0,267 \pm 0,0012$ pФВ>0,05 p2В>0,05
33-36 тижнів гестації		
Група 2В (порівняння)	21	$0,268 \pm 0,0014$ pФВ>0,05

Примітка. рФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; р2В – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1В з групою порівняння 2В.

Імуногістохімічне дослідження проапоптотичного протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок показало, що навіть при фізіологічній вагітності присутня продукція цього антигену. Таким чином, процеси Вах-залежного апоптозу трофобласта присутні у хоріальних ворсинках і за фізіологічного плину вагітності. Щоправда, рівень антигену Вах доволі сильно варіював від ворсинки до ворсинки, і навіть у межах однієї ж ворсинки.

З таблиці видно, що оптична густина імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах у середньому не відрізняється від показників при фізіологічній вагітності, а також даних тих спостережень, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації, а в жінок не виявлено проявів анемії.

Зображення експресії протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок проілюстровані на рисунку 5.25.

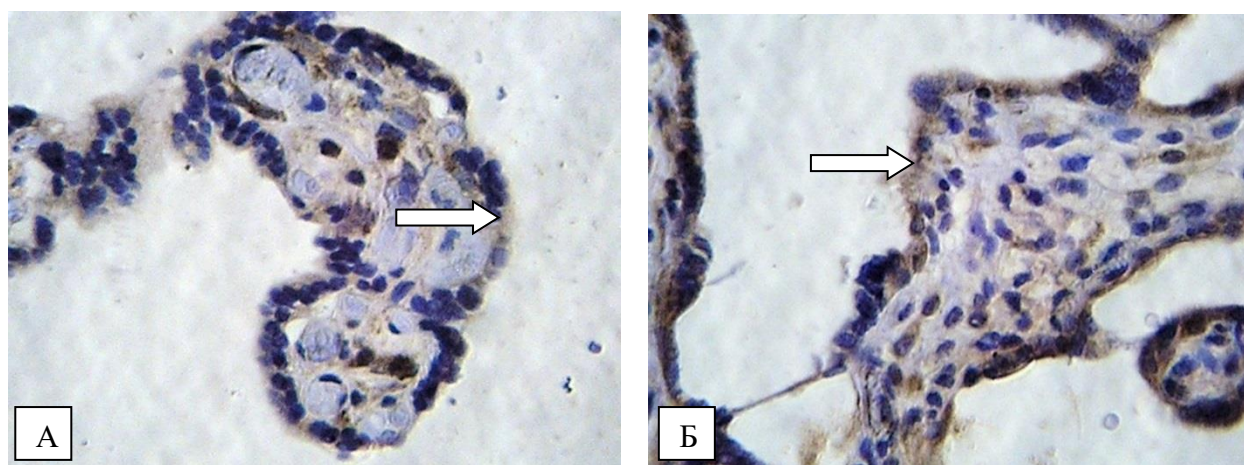


Рисунок 5.25 Експресія протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок без залізодефіцитної анемії (А – 30 тижнів гестації; Б – 34 тижнів гестації). Імуногістохімічне типування з застосуванням антитіл проапоптотичного протеїну Вах (Polyclonal Rabbit Anti-Human Vax). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Резюме

Таким чином, нами проведені дослідження щодо морфології плаценти при фізіологічній вагітності та у два терміни – 29-32 та 33-36 тижнів гестації, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації у жінок без залізодефіцитної анемії (ЗДАВ). У вказаних групах спостереження клінічно були різні причини передчасних пологів, які описані вище у Розділі 2 Матеріал і методи дослідження.

Макроскопічне вивчення плацент при фізіологічній вагітності показало,

що материнська поверхня характеризується переважно наявністю чітких меж між котиледонами, часто з утворенням глибоких борозен (90,5% із 21 спостереження). Трапляються поодинокі згустки крові, ділянки фібрину, поодинокі кальцинати у вигляді чітко відмежованих ущільнень білувато-сірого кольору. Гістологічно проявлялись інволютивно-деструктивні процеси, осередки кальцифікатів та інфаркти. Характерним є домінування хоріальних ворсинок зрілої будови (термінальних, термінальних «спеціалізованих», проміжних зрілих, стовбурових пізніх), які в сумі становлять у середньому $94,8 \pm 1,18\%$. Згадані хоріальні ворсинки не мають струму стромальних каналів, клітин Гофбауера, мезенхімоцитів, але містять у великій кількості фібробласти, сполучнотканинні волокна, вкриті переважно СТ, клітини ЦТ фіксуються рідко.

При передчасних пологах в 29-32 тижні материнська поверхня макроскопічно характеризується достатньо гладеньким рисунком без особливо вираженого розділення на котиледони. Гістологічно переважають проміжні зрілі та термінальні хоріальні ворсинки, інколи стовбурові хоріальні ворсинки.

У термін 33-36 тижнів гестації візуально відзначається тенденція до заглиблення борозен між котиледонами та появою в більшості плацент чітких меж між котиледонами. Гістологічно переважають термінальні ворсинки з щільною строною, капіляри переважно розширені.

Експресія плацентарного лактогену трофобластом хоріальних ворсинок зростає з плином вагітності [43]. Отримані нами дані цілком це підтверджують. При порівнянні фізіологічної вагітності та передчасних пологів (29-32 та 33-36 тижнів гестації) з нормальним дозріванням хоріального дерева без ЗДАВ зафіксовані більші показники плацентарного лактогену в трофобласті хоріальних ворсинок відповідно в більшій терміні гестації ($p < 0,001$).

Загально відомо, що показники хоріонічного гонадотропіну досягають свого піку на 10-11 тиждень вагітності та поступово знижуються з плином вагітності [40, 72]. Щодо наших досліджень, то найвищий показник хоріонічного гонадотропіну виявляється у термін вагітності 29-32 ($p < 0,001$), а найнижчий у групі фізіологічної (37-40 тижнів) вагітності ($p < 0,001$).

Розбіжності між трьома групами спостереження є статистично значущими ($p < 0,001$).

Плацентарна лужна фосфатаза як імуногістохімічним методом, так і гістохімічним методом визначається у трофобласті хоріальних ворсинок. Імуногістохімічне забарвлення плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок має дрібно-гранулярний характер з доволі рівномірним розташуванням у цитоплазмі трофобласта, саме тому вимірювання забарвлення за допомогою зондового методу є найбільш ефективним.

При фізіологічній вагітності показники плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок є значно більшими, ніж у групах передчасних пологів у жінок без ЗДАВ та з нормальними темпами розвитку хоріального дерева. У цілому спостерігається тенденція до зростання рівня гормону в трофобласті хоріальних ворсинок з наростанням терміну вагітності.

Найбільші показники оптичної густини гістохімічного забарвлення при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази зафіксовані при фізіологічній вагітності. Активність плацентарної лужної фосфатази цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок зростає з терміном гестації ($p < 0,001$). Отже, треба підкреслити, що кількісні показники плацентарного лактогену, хоріонічного гонадотропіну та плацентарної лужної фосфатази вільозного трофобласта віддзеркалюють ступінь дозрівання хоріального дерева. Фермент 11β -HSD-2 запускає механізм природньої стимуляції пологів і набуває свого максимального піку в пізні терміни вагітності [230]. У нашому дослідженні встановлення рівня вище вказаного ферменту слугувало «відправним» пунктом при порівнянні з усіма іншими групами спостереження. Установлено, що для обох вивчених термінів в групах без ЗДАВ, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації, показники 11β -HSD-2 значно менші порівняно з фізіологічною вагітністю. Вочевидь, отримані показники властиві визначеним термінам вагітності.

Таким чином, найвищий показник ферменту виявляється у термін 37-40 тижнів гестації ($p < 0,001$), а найнижчий у групі порівняння (29-32 тижнів

вагітності), $p < 0,001$. Розбіжності між трьома групами спостереження є статистично значущими ($p < 0,001$).

Цінним інструментом для вивчення ПН є дослідження рівня віментину судинного русла трофобласта [249], який є зручним молекулярним фактором зрілості клітин, дає можливість оцінити активність ангиогенезу в тканині та прогнозувати розвиток судинної системи [5]. Нами було досліджено показники віментину у фібробластах та ендотеліоцитах строми хоріальних ворсинок плаценти. При фізіологічній вагітності оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах та ендотеліоцитах є найбільш високою ($p < 0,001$).

Для рівнозначних за патологією груп дослідження рівень віментину є вищим у термін гестації 33-36 тижнів у порівнянні з терміном вагітності 29-32 тижні ($p < 0,001$). У свою чергу, отримані дані дають уявлення про те, як розвивається судинна система хоріального дерева плаценти. З плином вагітності показник віментину зростає в трофобласті хоріальних ворсинок при нормальному розвитку хоріального дерева в умовах відсутності ЗДАВ.

Виявити альтерацію трофобласта можна за допомогою нінгідриново-шифововської реакції на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikawa. Усереднені показники оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків для обох термінів вагітності перевищують дані при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$).

Отримані дані вказують на те, що при нормальному дозріванні хоріального дерева в трофобласті хоріальних ворсинок присутні процеси обмеженого протеолізу, тобто відбувається альтерація трофобласта, яку не видно при застосуванні забарвлення гематоксиліном та еозином. З отриманих показників можна зробити висновок, що процеси обмеженого протеолізу при нормальному розвитку хоріального дерева плаценти знижуються з плином вагітності ($p < 0,001$).

Гістохімічна реакція на кислі та основні білки бромфеноловим синім за Mikel Calvo дає змогу виявити різновид альтерації структур, механізм якого

пов'язаний зі зростанням рівня вільно радикальних процесів. Усереднені показники коефіцієнту R/B при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo для обох термінів вагітності перевищують дані при фізіологічній вагітності ($p_{2B} < 0,001$). Отримані числа для двох термінів вагітності між собою статистично не відрізняються ($p > 0,05$). Вказані зміни вказують на те, що при нормальному дозріванні хоріального дерева відбувається альтерація трофобласта, яка розвивається за механізмом вільнорадикального ушкодження.

Дослідження білка Ki-67 дає уявлення про проліферативну активність клітин, тобто найнижчий його рівень характерний для клітин, які перебувають у G0-фазі, коли клітина не ділиться, і різко зростає у проліферуючих клітинах [123, 232]. При фізіологічній вагітності в хоріальних ворсинках Ki-67-позитивні ядра трофобласта зустрічаються нечасто у зіставленні з групами порівняння 1В та 2В ($p < 0,001$). У термін гестації 29-32 тижні фіксуються більш високі показники ($p < 0,05$), ніж у термін 33-36 тижнів. Загалом цей факт відповідає відомим даним про темпи проліферативних процесів протягом вагітності – вищі темпи проліферації у більш ранні терміни вагітності [55, 120]. Розташовуються Ki-67-позитивні ядра поза територією СТ, в окремих одно- або двоядерних клітинах, локалізація яких відповідає території вільозного ЦТ.

Противапоптотичний протеїн Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних при фізіологічній вагітності характеризується високим рівнем, на що вказує висока інтенсивність забарвлення. Щодо порівняння обох термінів гестації між собою та з фізіологічною вагітністю, то розбіжностей серед показників не знайдено ($p > 0,05$). Таким чином, противапоптотичний протеїн Bcl-2 має високу інтенсивність забарвлення як при фізіологічній вагітності, так і у два вивчені терміни вагітності.

Процеси Вах-залежного апоптозу трофобласта присутні у хоріальних ворсинках і за фізіологічного плину вагітності. Відзначається чітка продукція проапоптотичного протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок як при фізіологічній вагітності, так і при передчасних пологах в термін 29-32 та

33-36 тижнів вагітності. Розбіжностей між групами дослідження не виявлено ($p > 0,05$). Рівень антигену Вах доволі сильно варіював від ворсинки до ворсинки, та навіть у межах однієї і тієї ж ворсинки.

Основні положення цього розділу викладені у статтях [18, 19, 21, 23, 25, 35, 186], апробовані на наукових форумах [17, 24, 26, 29, 33, 36, 48], додатково відображені у патенті на корисну модель та раціоналізаторських пропозиціях [20, 22, 27, 32, 52].

РОЗДІЛ 6

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХОРІАЛЬНОГО ДЕРЕВА ПЛАЦЕНТИ З НОРМАЛЬНИМИ ТЕМПАМИ РОЗВИТКУ ХОРІОНУ У ПОЄДНАННІ З ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЮ АНЕМІЄЮ ВАГІТНИХ З ПОЛОГАМИ В ТЕРМІНІ ГЕСТАЦІЇ У 29-32 ТА 33-36 ТИЖНІВ

Розділ присвячено патоморфологічній, зокрема гісто- та імуногістохімічній характеристиці хоріального дерева при його нормальному дозріванні за умов виявлення у жінки залізодефіцитної анемії вагітних (ЗДАВ) та передчасних пологів у термінах 29-32 і 33-36 тижнів вагітності. Ці групи спостереження взяті з метою встановлення змін в плаценті при безпосередньому впливі ЗДАВ на розвиток хоріального дерева, а також для зіставлення отриманих результатів із основною групою спостереження 1 та 2 (передчасне дозрівання хоріального дерева у жінок на тлі ЗДАВ у термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів).

Для встановлення причини передчасних пологів та можливого впливу ЗДАВ на морфологію хоріального дерева плаценти нами проведено такі дослідження: імуногістохімічне дослідження на плацентарні гормони (плацентарний лактоген, хоріонічний гонадотропін), плацентарну лужну фосфатазу (рівень експресії та її активність); фермент 11 β -HSD-2; проапоптотичний протеїн Вах; протиапоптотичний протеїн Bcl-2; проліферативний ядерний антиген Ki-67; віментин.

За даними літератури, в плаценті протягом гестації відбувається диференціювання хоріальних ворсинок шляхом прямої трансформації проміжних незрілих у проміжні зрілі хоріальні ворсинки. Проте при ЗДАВ така трансформація порушується, і вже з терміну гестації 17-20 тижнів у жінок на тлі ЗДАВ, яка триває не менше 4 тижнів, у плаценті розвиваються перші порушення дозрівання хоріальних ворсинок [143].

6.1 Морфологічна та морфометрична характеристика хоріального дерева

Макроскопічне вивчення патології посліду розпочинали з оцінки варіанту прикріплення пуповини до плаценти, типу розгалуження судин хоріальної пластинки, описової характеристики материнської поверхні народженої плаценти з оцінкою особливостей будови котиледонів, візуальної оцінки вільних плодових оболонок. Подальше дослідження передбачало визначення основних органометричних параметрів плаценти. Установлено, що плодова частина плаценти була вкрита гладенькими, блискучими, сіро-рожевого кольору оболонками, на поверхні яких не було жодних дефектів. Вільні оболонки плаценти та пуповина – без особливостей.

Центральний тип прикріплення пуповини до плаценти зафіксовано у 28 спостереженнях (70%), парацентральный – у 9 (22,5%), маргінальний – у 3 спостереженнях (7,5%). При визначенні типу розгалуження судин у хоріальній пластинці встановлені такі співвідношення: розсипний та проміжний типи (по 18 випадків – 90%), магістральний тип (4 випадків – 10%). В обидва терміни гестації плацента у всіх спостереженнях зберігала дископодібну форму. Макроскопічно при паралельних пластинчастих розрізах тканини плаценти відсутні не функціонуючі ділянки. Материнська поверхня більшості плацент в обидва терміни гестації характеризувалася достатньо гладеньким рисунком без особливо вираженого розділення на котиледони. У термін 33-36 тижні гестації візуально все ж відзначалася тенденція до заглиблення борозен між котиледонами. Загалом поверхня материнської частини плаценти була дещо горбкуватою. При макроскопічному огляді спостерігалися поодинокі згустки крові, ділянки фібрину, поодинокі кальцинати у вигляді чітко відмежованих ущільнень білувато-сірого кольору, діаметр яких в середньому коливався від 0,9 мм до 1,2 мм.

Основні органометричні просторові параметри плаценти з нормальними темпами розвитку хоріального дерева при ЗДАВ у термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів подані у таблиці 6.1.

Таблиця 6.1 – Органометричні просторові параметри плаценти з нормальними темпами розвитку хоріального дерева при залізодефіцитній анемії вагітних у термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів ($M \pm m$)

Групи дослідження	Маса плаценти (г)	Товщина плаценти (см)	Площа материнської поверхні (см ²)	Об'єм плаценти (см ³)
Фізіологічна вагітність (n=21)	486±6,43	2,37±0,052	212±6,1	489,9±6,3
29-32 тижні гестації				
Група 1Б (порівняння) (n=20)	432±4,9 pФВ≤0,001 p2Б≤0,001	2,07±0,031 pФВ≤0,001 p2Б=0.03	167±4,4 pФВ≤0,001 p2Б≤0,001	349±8,0 pФВ≤0,001 p2Б≤0,001
33-36 тижнів гестації				
Група 2Б (порівняння) (n=20)	469±4,6 pФВ=0,04	2,24±0,045 pФВ≥0,05	193±5,4 pФВ=0,02	433±8,7 pФВ≤0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

Результати обрахунку різних типів хоріальних ворсинок у групах порівняння 1Б та 2Б подані в таблиці 6.2.

Таблиця 6.2 – Відсоткове співвідношення різних типів хоріальних ворсинок у групах порівняння 1Б та 2Б у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів ($M \pm m$)

	Термін гестації	
	29-32 тижні гестації	33-36 тижні гестації
Типи хоріальних ворсинок	Група 1Б (порівняння) (n=20)	Група 2Б (порівняння) (n=20)
Стовбурові «ранні»	2,8±0,14	0,2±0,01
Стовбурові «пізні»	4,8±0,16	4,8±0,11
Трофобластичні та вільозні відростки	3,4±0,15	2,6±0,08
Мезенхімальні	0,7±0,02	0,7±0,02
Ембріональні	1,5±0,08	1,4±0,04
Проміжні незрілі	10,1±0,39	3,8±0,10
Проміжні зрілі	38,4±0,65	22,4±0,68
Термінальні	34,9±0,78	55,7±0,89
Термінальні «спеціалізовані»	3,4±0,12	8,4±0,44

Як видно з даних таблиці, в обох групах дослідження ступінь зрілості хоріального дерева не досягав рівня фізіологічної вагітності (стовбурові «ранні» – $0,1 \pm 0,01$; стовбурові «пізні» – $4,0 \pm 0,21$; трофобластичні та вільозні відростки – $1,1 \pm 0,04$; мезенхімальні – $0,4 \pm 0,02$; ембріональні – $0,6 \pm 0,02$; проміжні незрілі – $3,0 \pm 0,14$; проміжні зрілі – $14,9 \pm 0,83$; термінальні – $38,4 \pm 1,14$; термінальні «спеціалізовані» – $37,5 \pm 1,16$). Статистична вірогідність розбіжності з фізіологічною вагітністю для обох груп дослідження значима ($p < 0,05$). У термін гестації 29-32 тижнів гістологічно переважали проміжні зрілі та термінальні хоріальні ворсинки. Проміжні зрілі хоріальні ворсинки були вкриті переважно СТ. Строма представлена щільно розташованими колагеновими волокнами, що характерно для обох вивчених термінів гестації. У термін 33-36 тижнів гестації суттєво переважали термінальні хоріальні ворсинки, вкриті винятково СТ. Строма характеризувалась великою кількістю розширених капілярів. При обох термінах вагітності фібриноід зафіксовано у вигляді

суцільного (або іноді місцями переривчастого шару), який покривав ззовні ворсину по її площі.

В обох групах порівняння спостерігався високий відсоток трофобластичних та вільозних відростків. Ми вважаємо, що високий рівень трофобластичних та вільозних відростків може бути пов'язаний з підсиленням явищ регенерації ушкоджених ворсинок при ЗДАВ. Описані зміни проілюстровані на рисунках 6.1.

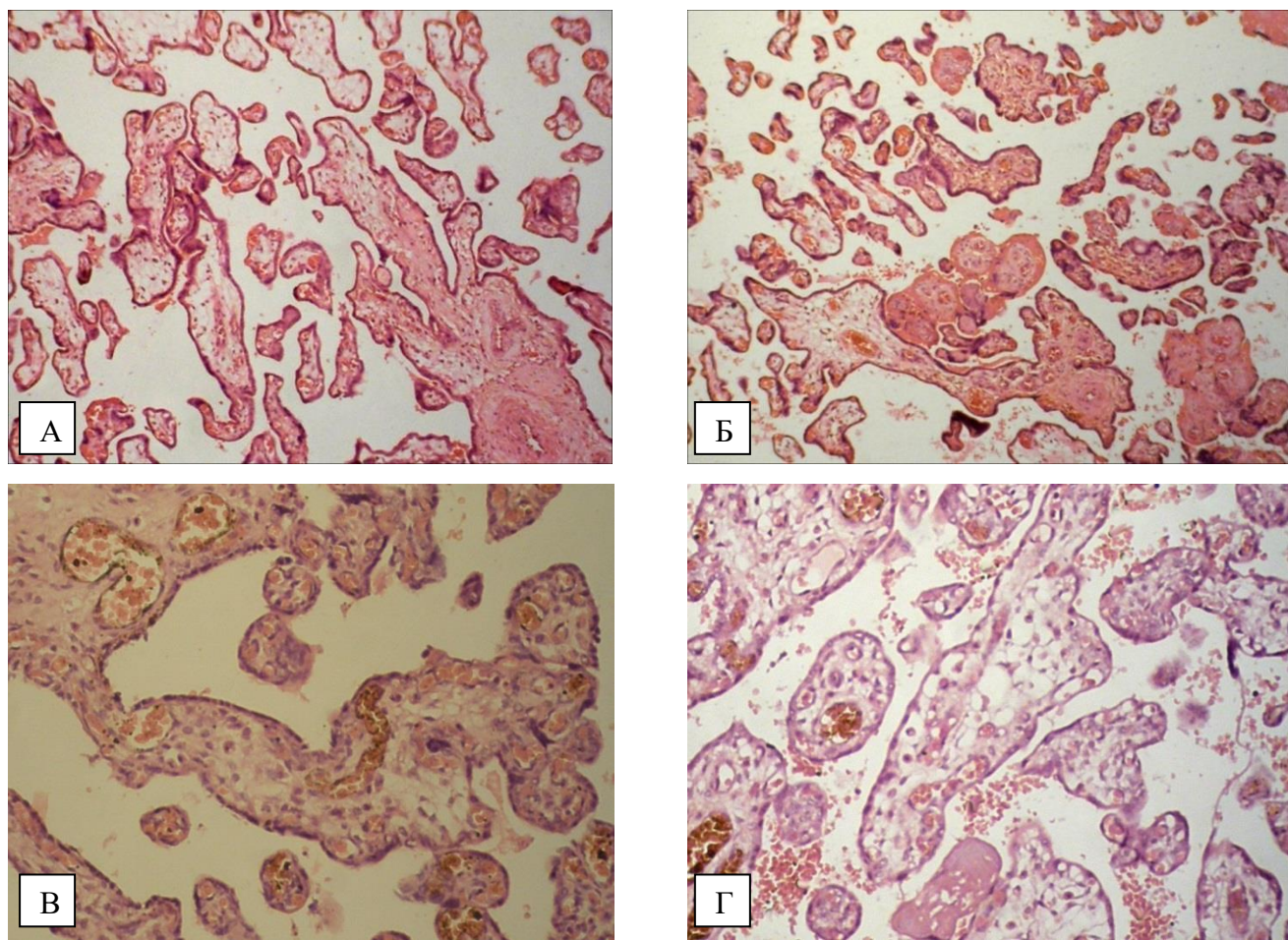


Рисунок 6.1 Хоріальне дерево плаценти з нормальним дозріванням у жінок зі залізодефіцитною анемією. А – проміжні незрілі ворсинки, стовбурова ворсинка, 30 тижнів гестації; Б – сукупність різноманітних ворсинок хоріону, 34 тижні гестації; В – проміжна незріла ворсинка, 33 тижні гестації; Г – проміжні незрілі ворсинки, 29 тижнів гестації. Гематоксилін та еозин.

Збільшення: А, Б – Об.4^х, Ок.10^х; В, Г – Об.10^х, Ок.10^х

6.2 Імуногістохімічне дослідження плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок

Дані імуногістохімічного дослідження на виявлення плацентарного лактогену в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти наведені у таблиці 6.3.

Таблиця 6.3 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,424 \pm 0,0028$
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	$0,316 \pm 0,0024$ $p_{\Phi B} < 0,001$ $p_{2B} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	$0,349 \pm 0,0021$ $p_{\Phi B} < 0,001$

Примітка. $p_{\Phi B}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p_{2B} – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

В обидва терміни гестації (29-32 та 33-36 тижнів) ми отримали менші показники плацентарного лактогену в трофобласті хоріальних ворсинок у порівнянні з фізіологічною вагітністю ($p < 0,001$). Відзначалася тенденція щодо поступового зростання оптичної густини імуногістохімічного забарвлення з плином вагітності, проте в обох групах дослідження показники не досягали рівня фізіологічної вагітності ($p < 0,001$). Отже, синтетична функція трофобласта хоріальних ворсинок за умов ЗДАВ страждає, і це виявляється у зменшенні продукції гормону плаценти – плацентарного лактогену.

Експресія плацентарного лактогену в хоріальних ворсинках плаценти в групах порівняння 1Б та 2Б проілюстрована за допомогою рисунка 6.2.

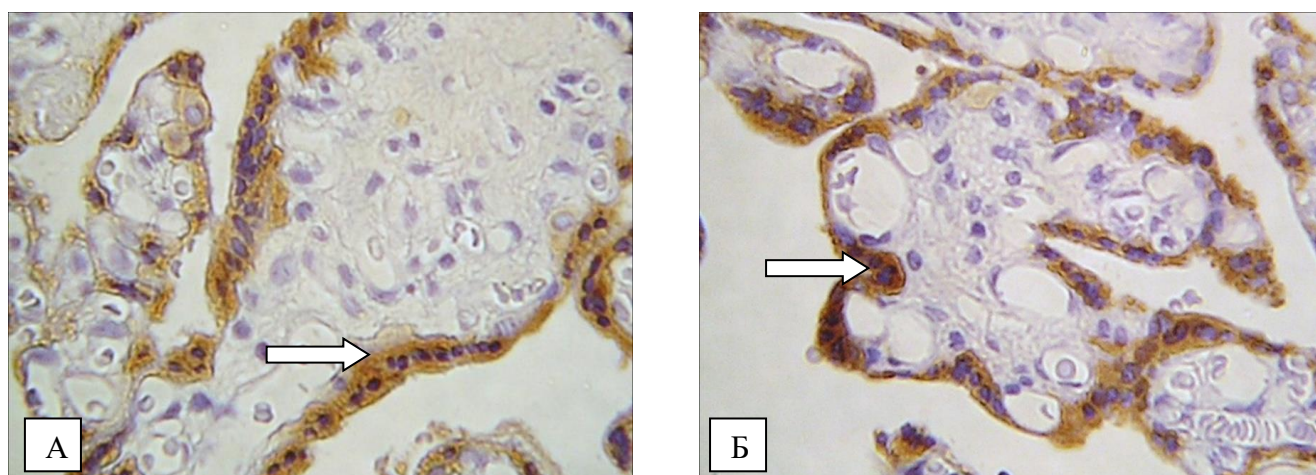


Рисунок 6.2 Експресія плацентарного лактогену в хоріальних ворсинках плаценти з нормальним дозріванням у жінок зі залізодефіцитною анемією (А – 30 тиждень гестації; Б – 36 тижнів гестації). Імуногістохімічне типування первинними антитілами до плацентарного лактогену (Polyclonal Rabbit Anti-Human Placental Lactogen). Збільшення: Об.40^х, Ок.10^х

Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін у трофобласті хоріальних ворсинок зазначені у таблиці 6.4.

Таблиця 6.4 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,214±0,0023
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	0,228±0,0021 pФВ<0,001 p2Б<0,001
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	0,217±0,0018 pФВ<0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

Щодо плацентарного гормону – хоріонічного гонадотропіну, очікувалося, що його показники в даних групах спостереження повинні бути меншими порівняно з групою контролю (37-40 тижнів гестації). Проте, як простежується з даних таблиці 6.4, в обох групах спостереження рівень хоріонічного гонадотропіну досягає рівня при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Для терміну гестації 29-32 тижнів ми отримали особливо високі показники хоріонічного гонадотропіну, враховуючи очікування щодо зниження показників гормону поступово до 37-го тижня вагітності ($p < 0,001$). Отже, на тлі ЗДАВ відбувається порушення синтезу хоріонічного гонадотропіну у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів.

Зображення експресії хоріонічного гонадотропіну в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з нормальними темпами розвитку на тлі ЗДАВ у два різні терміни – 29-32 та 33-36 тижнів гестації – проілюстроване на рисунку 6.3.

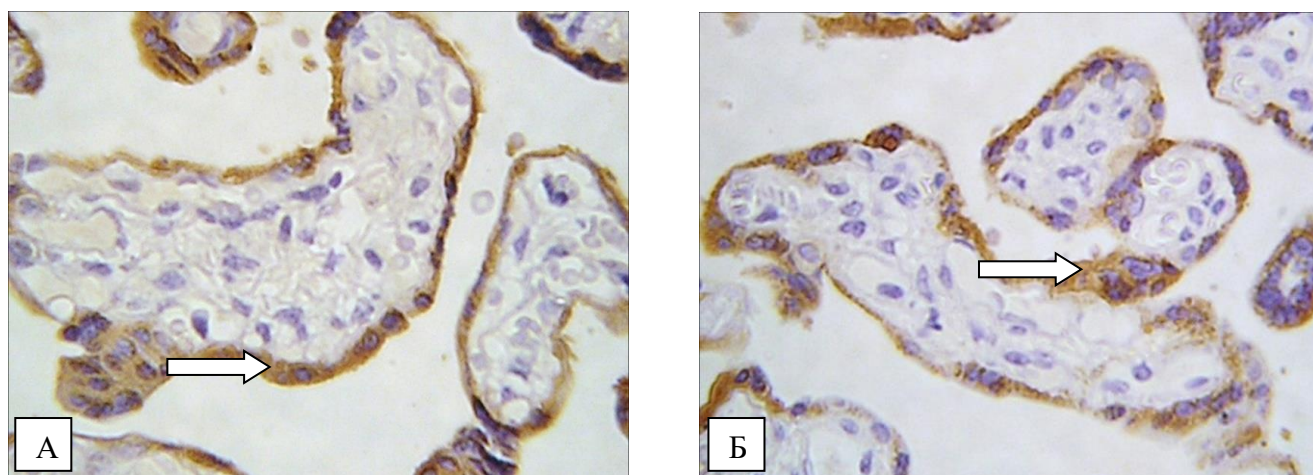


Рисунок 6.3 Експресія хоріонічного гонадотропіну в хоріальних ворсинках плаценти з нормальним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією (А – 31 тиждень гестації; Б – 36 тиждень гестації). Імуногістохімічне типування первинними антитілами до хоріонічного гонадотропіну (Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin (hCG)). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

6.3 Гістохімічне та імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази

Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу в трофобласті ХВ представлені в таблиці 6.5.

Таблиця 6.5 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні плацентарної лужної фосфатази ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,348 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	$0,162 \pm 0,0014$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2Б} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	$0,192 \pm 0,0015$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2Б}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

При фізіологічній вагітності оптична густина імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу в трофобласті хоріальних ворсинок була значно більшою ($p < 0,001$), ніж при передчасних пологах незалежно від терміну вагітності. Водночас, порівнюючи два вивчених терміни гестації, можна відзначити тенденцію до зростання оптичної густини імуногістохімічного забарвлення в трофобласті хоріальних ворсинок з наростанням терміну вагітності ($p < 0,001$).

Експресія плацентарної лужної фосфатази в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок в обох групах спостереження проілюстрована за допомогою рисунка 6.4.

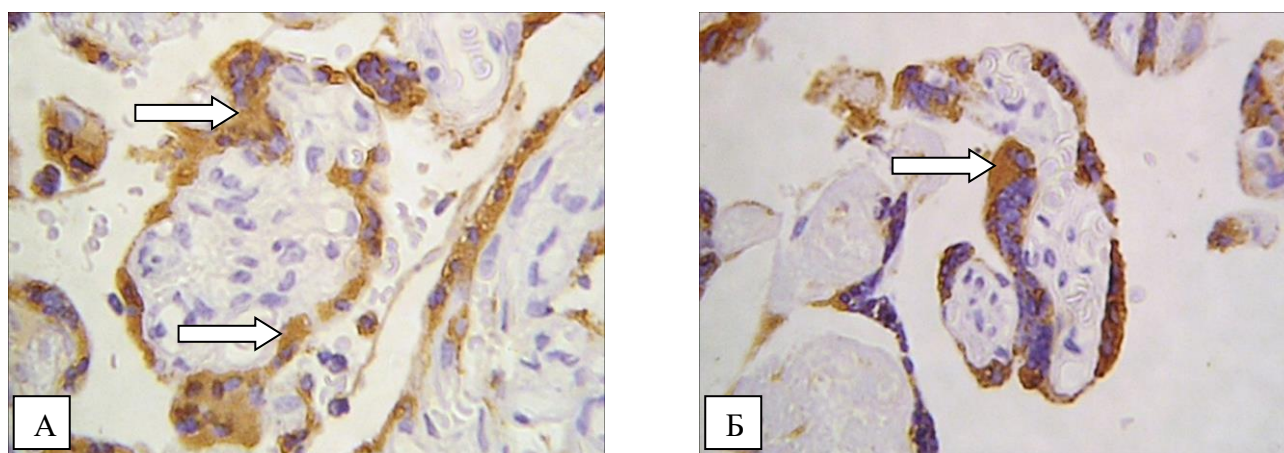


Рисунок 6.4 Експресія плацентарної лужної фосфатази в хоріальних ворсинках плаценти з нормальним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією (А – 29 тижнів гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з моноклональними антитілами (Clone 8A9) та забарвленням ядер гематоксиліном Майєра. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Показники активності плацентарної лужної фосфатази цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок наведені у таблиці 6.6.

Таблиця 6.6 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,234±0,0013
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	0,123±0,0014 pФВ<0,001 p2Б<0,001
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	0,142±0,0014 pФВ<0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

З наведених даних видно, що найбільший показник оптичної густини імуногістохімічного забарвлення при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази зафіксовано в групі контролю ($p < 0,001$). Важливо, що активність плацентарної лужної фосфатази зростала з терміном гестації ($p < 0,001$). Водночас, у термін гестації 33-36 тижнів особливості зміни активності плацентарної лужної фосфатази відповідали особливостям її показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення ($p < 0,001$).

Забарвлення цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок при визначенні ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази методом азосполучення проілюстроване на рисунку 6.5.

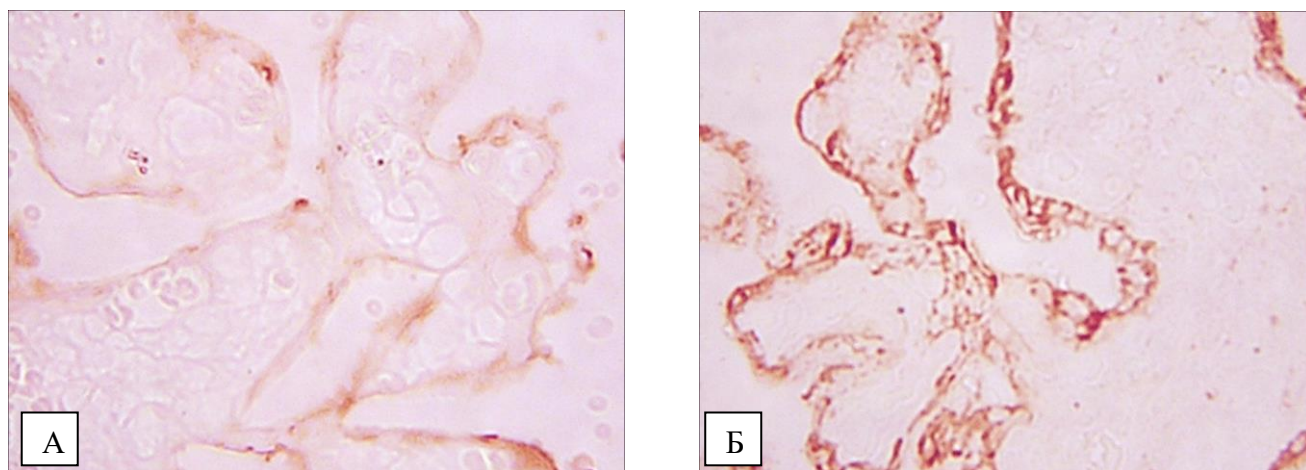


Рисунок 6.5 Зростання ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням зі збільшенням терміну гестації у жінок з залізодефіцитною анемією (А – 30 тижнів гестації; Б – 34 тижнів гестації).

Гістохімічна методика методом азосполучення.

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

6.4 Імуногістохімічне дослідження ферменту 11-бета-гидроксистероїд-дегідрогенази (11 β -HSD-2) в синцитіотрофобласті

З метою встановлення можливого зв'язку між передчасними пологами на тлі ЗДАВ нами було проведене імуногістохімічне дослідження на фермент 11 β -HSD-2. Отримані показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення 11 β -HSD-2 зазначені у таблиці 6.7.

Таблиця 6.7 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на 11-бета-гидроксистероїд-дегідрогеназу в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,285 $\pm$ 0,0012
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	0,167 $\pm$ 0,0018 pФВ<0,001 p2Б<0,001
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	0,186 $\pm$ 0,0018 pФВ<0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

З поданих вище результатів видно, що у двох термінах гестації оптична густина імуногістохімічного забарвлення ферменту 11 β -HSD-2 не досягала рівня фізіологічної вагітності ($p < 0,001$).

Також треба відзначити, що рівень ферменту 11 β -HSD-2 у групах спостереження на фоні ЗДАВ для обох вивчених термінів гестації завжди нижчий у зіставленні з групами порівняння 1Б та 2Б (нормальне дозрівання хоріону без ЗДАВ), $p < 0,001$.

Експресія ферменту 11-бета-гидроксистероїд-дегідрогенази-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти в термінах гестації 29-32 і 33-36 тижнів представлена на рисунку 6.6.

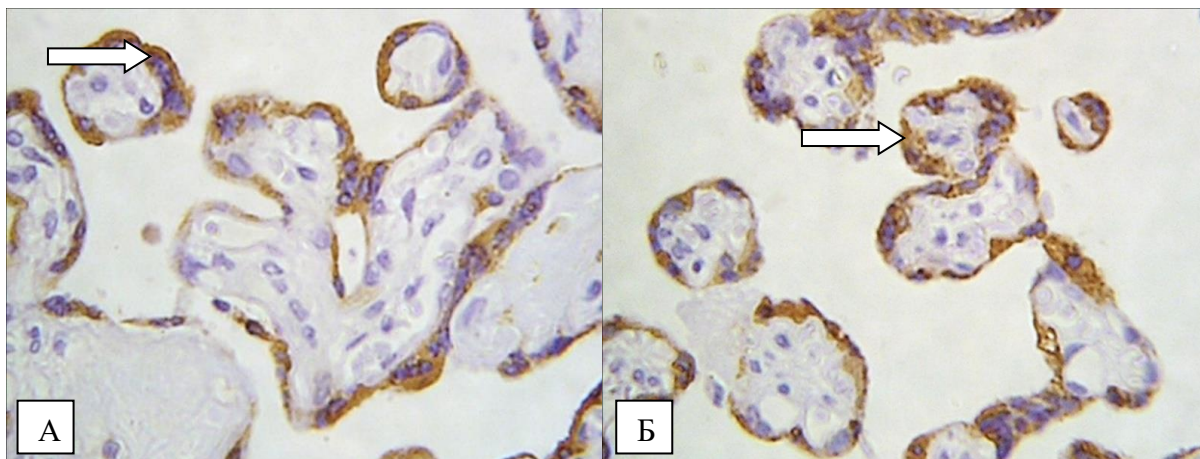


Рисунок 6.6 Експресія ферменту 11 β -HSD-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією (А – 32 тижнів гестації; Б – 33 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням Polyclonal Rabbit Anti-Human 11 β -HSD-2 з дозабарвленням гематоксиліном Майєра. Збільшення: Об.40 $\times$, Ок.10 $\times$

6.5 Дослідження експресії віментину в структурах ворсинок

Установлення кількісних параметрів віментину є зручним молекулярним фактором зрілості клітин, дає змогу оцінити активність ангіогенезу в тканині та прогнозувати розвиток судинної системи [5]. Нами було досліджено оптичну густину імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах та ендотеліюцитах строми хоріальних ворсинок плаценти в групах спостереження з нормальним розвитком хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ у термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів.

Оптичну густину імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах хоріальних ворсинок з нормальним дозріванням плаценти на тлі ЗДАВ представлено в таблиці 6.8.

Таблиця 6.8 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,244 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	$0,126 \pm 0,0012$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2Б} < 0,001$
33-36 тижні гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	$0,164 \pm 0,0011$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2Б}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

Для обох термінів гестації у групах дослідження оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах хоріальних ворсинок плаценти була вищою у термін 33-36 тижнів у порівнянні з терміном вагітності 29-32 тижні ($p < 0,001$). Зауважимо, що для обох термінів гестації рівень оптичної густини імуногістохімічного забарвлення не досягав показників при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$).

Подібна ситуація при дослідженні оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах хоріальних ворсинок склалася при дослідженні оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин в ендотеліоцитах хоріальних ворсинок плаценти.

Отримані результати продемонстровані у таблиці 6.9.

Таблиця 6.9 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у ендотелії хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,448 \pm 0,0029$
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	$0,308 \pm 0,0025$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2Б} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	$0,349 \pm 0,0026$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2Б}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

Для обох термінів гестації у групах дослідження оптична густина імуногістохімічного забарвлення на віментин у ендотеліоцитах хоріальних ворсинок плаценти була вищою у термін гестації 33-36 тижнів у порівнянні з терміном вагітності 29-32 тижні ($p < 0,001$).

В обох термінах гестації (29-32 та 33-36 тижнів) рівень оптичної густини імуногістохімічного забарвлення не досягав показників при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$).

Варто відзначити, що у групах спостереження на фоні ЗДАВ при нормальному дозріванні хоріальних ворсинок плаценти для обох вивчених термінів гестації (29-32 та 33-36 тижнів) рівень віментину у фіброблестах та ендотеліоцитах був нижчий у зіставленні з групами порівняння 1Б та 2Б (нормальне дозрівання хоріону без ЗДАВ), $p < 0,001$.

Зображення імуногістохімічного забарвлення на віментин у фібробластах та ендотелії хоріальних ворсинок плаценти проілюстроване за допомогою рисунка 6.7.

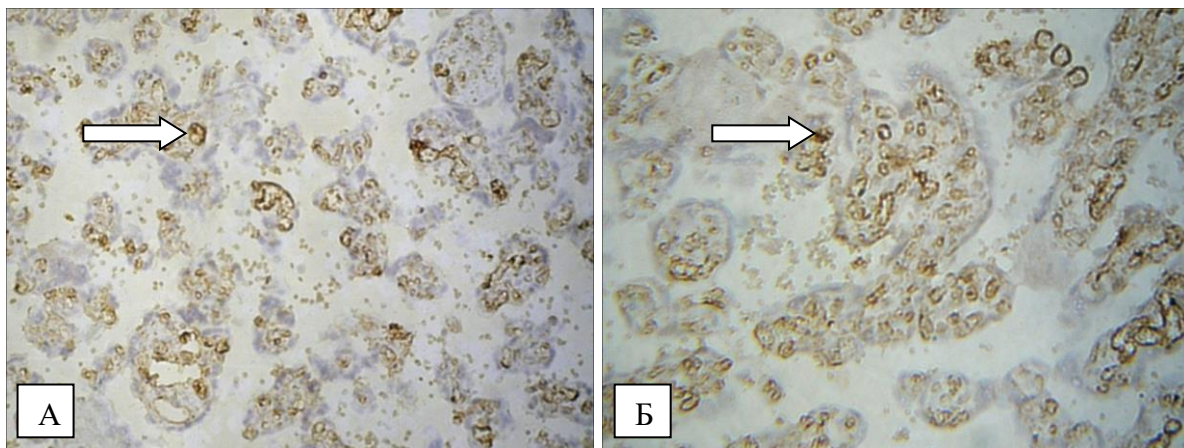


Рисунок 6.7 Експресія віментину у фібробластах та ендотелії хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією (А – 31 тиждень гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням моноклональних антитіл (clone V9).

Збільшення: Об.20^x, Ок.10^x

6.6 Дослідження обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти

За допомогою нінгідриново-шифововської реакції на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa нами було виконане гістохімічне визначення обмеженого протеолізу, яке є одним з тонких методів встановлення однієї з форм альтерації структур [120, 143].

Дані про середні величини оптичної густини гістохімічного забарвлення при дослідженні обмеженого протеолізу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням хоріального дерева на тлі ЗДАВ наведені у таблиці 6.10.

Таблиця 6.10 – Оптична густина гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikava (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,164 \pm 0,0014$
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	$0,214 \pm 0,0019$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$ $p_{2Б} > 0,005$
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	$0,216 \pm 0,0019$ $p_{\text{ФВ}} < 0,001$

Примітка. $p_{\text{ФВ}}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2Б}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

З наведених даних видно, що усереднені показники оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків для обох вивчених термінів вагітності (29-32 та 33-36 тижнів) перевищували показник оптичної густини гістохімічного забарвлення обмеженого протеолізу при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$).

Розбіжностей між групами порівняння 1Б та 2Б (нормальне дозрівання хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ) не знайдено ($p > 0,005$).

Наведені дані вказують на те, що на тлі ЗДАВ у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з нормальними темпами дозрівання зростають процеси обмеженого протеолізу, тобто фіксується альтерація трофобласта, яку не видно при застосуванні забарвлення гематоксиліном та еозином.

Зображення гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikava в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти проілюстроване на рисунку 6.8.

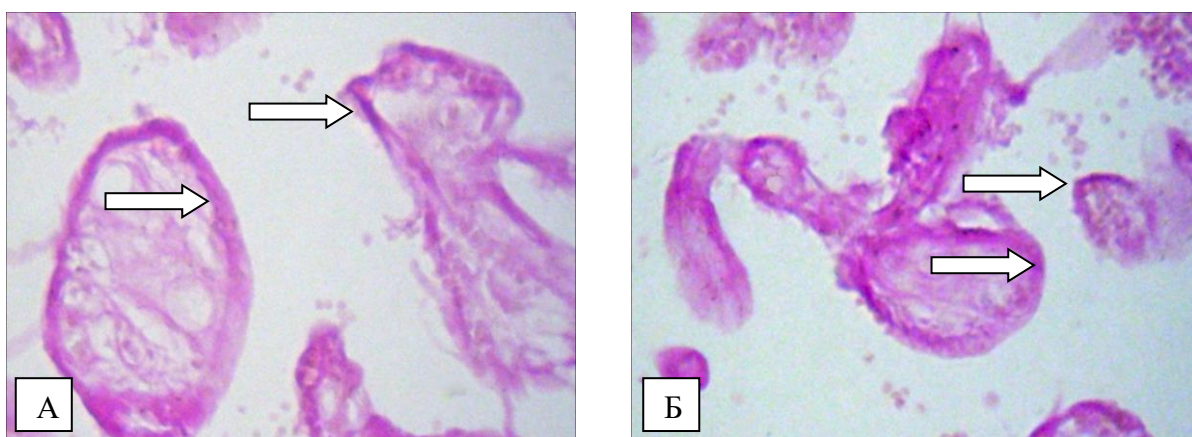


Рисунок 6.8 Експресія вільних аміногруп білків в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією (А – 30 тижнів гестації; Б – 34 тиждень гестації). Нінгідриново-шиффовська гістохімічна реакція на вільні аміногрупи білків за А. Yasuma та Т. Ichikawa. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

6.7 Дослідження окислювальної модифікації білків у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти

Усереднені величини коефіцієнту R/V наведені у таблиці 6.11.

Таблиця 6.11 – Коефіцієнт R/V при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo (M± m)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Коефіцієнт R/V при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo
Фізіологічна вагітність	21	1,02±0,012
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	1,22±0,019 pФВ<0,001 p2Б>0,05
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	1,23±0,019 pФВ<0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

Проведене дослідження ОМБ у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти дає змогу виявити різновид альтерації структур, механізм якого пов'язаний зі зростанням рівня вільнорадикальних процесів. Застосована методика комп'ютерної мікроспектрофотометрії гістологічних препаратів, які були забарвлені бромфеноловим синім за методом Mikel Calvo. Кількісним показником служив спектрометричний показник – коефіцієнт R/B (табл. 6.11). З представлених даних видно, що усереднені показники коефіцієнту R/B при гістохімічному забарвленні на кислі та основні білки за Mikel Calvo для обох термінів вагітності перевищували отримані показники при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Розбіжностей між групами порівняння 1Б та 2Б (нормальне дозрівання хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ) не виявлено ($p > 0,005$). Зазначені вище зміни вказують на те, що при нормальному дозріванні хоріального дерева, коли у жінок виявлена ЗДАВ, відбувається альтерація трофобласта, яка розвивається за механізмом вільнорадикального ушкодження. Результати забарвлення методикою за Mikel Calvo на виявлення «кислих» та «основних» білків при гістохімічному дослідженні представлені на рисунку 6.9.

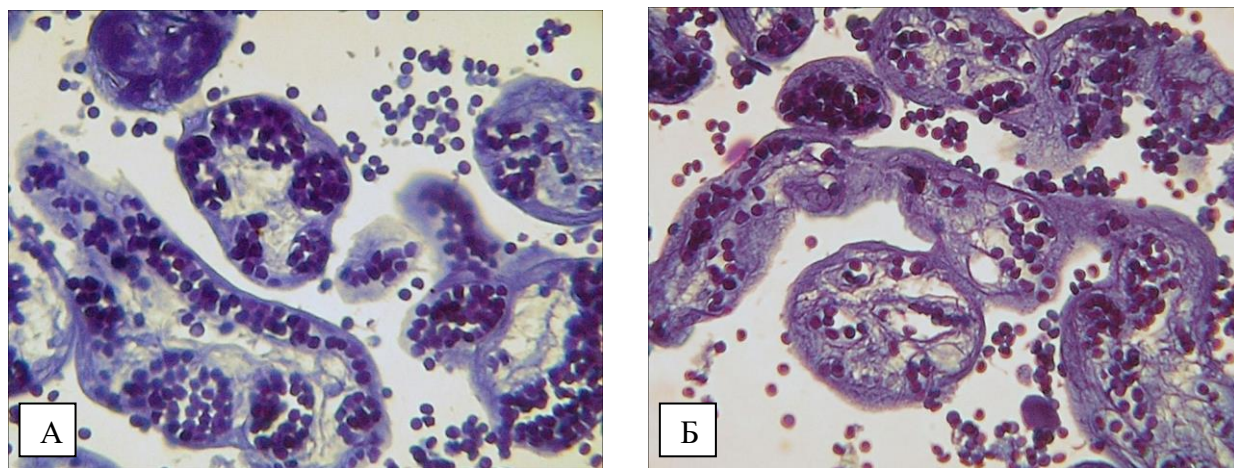


Рисунок 6.9 Хоріальне дерево плаценти з нормальним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією вагітних, переважання основних білків над кислими (А – 31 тиждень гестації; Б – 34 тижнів гестації). Гістохімічна реакція на «кислі» та «основні» білки бромфеноловим синім за Mikel Calvo.

Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

6.8 Дослідження регуляції проліферативної активності та відмирання трофобласта

Отримані дані щодо Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти за групами спостереження наведені у таблиці 6.12.

Таблиця 6.12 – Ki-67-позитивні ядра в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Ki-67-позитивні ядра в трофобласті хоріальних ворсинок (%)
Фізіологічна вагітність	21	$3 \pm 0,1$
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	$75 \pm 1,8$ $p_{ФВ} < 0,001$ $p_{2Б} < 0,001$
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	$62 \pm 1,5$ $p_{ФВ} < 0,001$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2Б}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

Показники Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок для обох вивчених термінів гестації перевищував показник при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Зауважимо, що і між двома вивченими термінами вагітності отримані показники Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок є статистично значущими ($p < 0,001$). Потрібно зазначити, що серед усіх груп спостереження найбільша частота Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок зафіксована у жінок, які страждали на ЗДАВ та з будовою хоріального дерева, яка відповідала терміну гестації. Описані зміни характерні для обох термінів гестації – 29-32 та 33-36 тижнів. Отримані зображення Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок проілюстровані за допомогою рисунка 6.10.

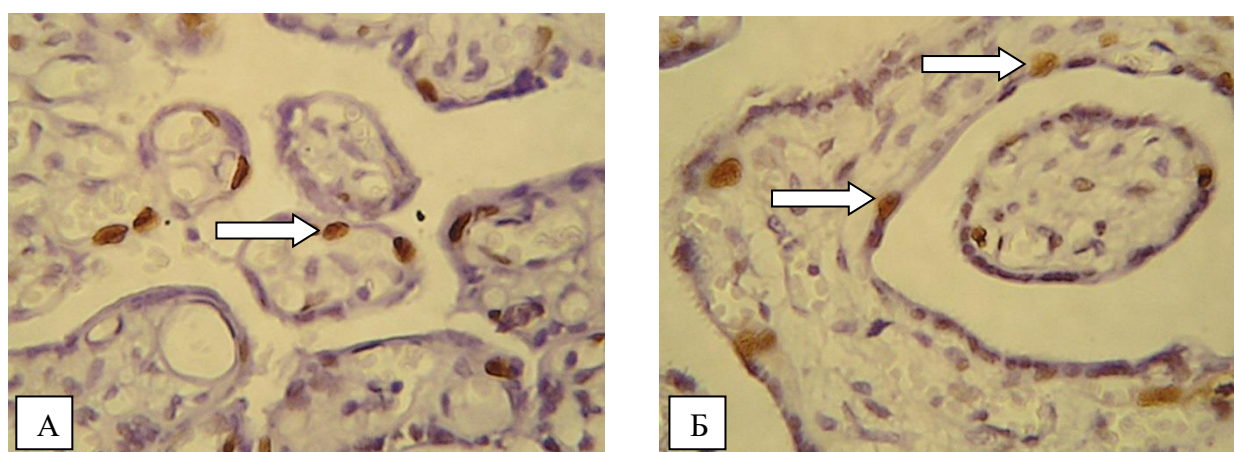


Рисунок 6.10 Проліферативна активність трофобласта хоріального дерева плаценти з нормальним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією (А – 30 тижнів гестації; Б – 34 тижнів гестації). Імуногістохімічне дослідження експресії маркера проліферуючих клітин Ki-67. Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Дані літератури свідчать, що помірна гіпоксія стимулює проліферативні процеси в трофобласті хоріальних ворсин плаценти, натомість сильна гіпоксія призводить до пригнічення процесів проліферації [54, 77, 78]. У дослідження увійшли спостереження ЗДАВ I-II ступенів, яка спричиняє гіпоксію в тканинах плаценти. У відповідь на це в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти відбувається стимуляція проліферативних процесів. Усереднені показники

імуногістохімічного дослідження протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок для обох термінів спостереження зазначені в таблиці 6.13.

Таблиця 6.13 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на протеїн Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	$0,326 \pm 0,0016$
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	$0,321 \pm 0,0016$ $p_{ФВ} > 0,05$ $p_{2Б} > 0,05$
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	$0,322 \pm 0,0017$ $p_{ФВ} > 0,05$

Примітка. $p_{ФВ}$ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; $p_{2Б}$ – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

Згідно з імуногістохімічним дослідженням протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти для груп спостереження жінок зі ЗДАВ та будовою хоріального дерева, яке відповідає терміну гестації, не було знайдено розбіжностей середніх тенденцій обох груп від показників фізіологічної вагітності ($p > 0,05$). Показники протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти на тлі ЗДАВ для обох термінів гестації менші у зіставленні з групами порівняння 1Б та 2Б (нормальне дозрівання хоріального дерева плаценти без ЗДАВ), проте результати між собою не були достовірними ($p > 0,05$). Зображення протиапоптотичного протеїну Bcl-2 представлено на рисунку 6.11.

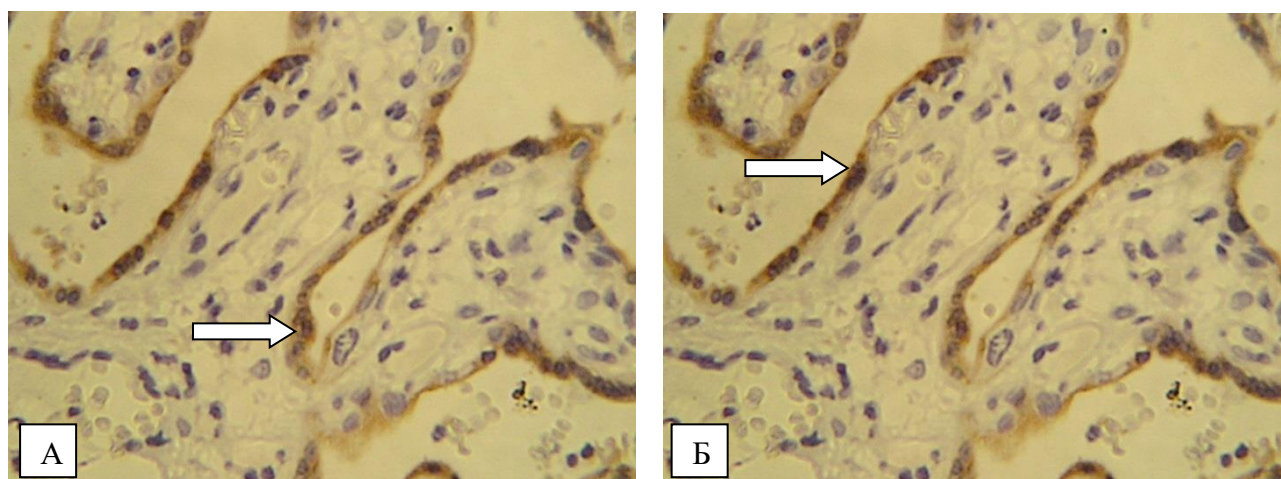


Рисунок 6.11 Експресія протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією (А – 30 тижнів гестації; Б – 35 тижнів гестації). Імуногістохімічна методика з застосуванням антитіл протиапоптотичного протеїну Bcl-2 (Clone 124). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Отримані дані щодо оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах наведені у таблиці 6.14.

Таблиця 6.14 – Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок ($M \pm m$)

Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент (n)	Оптична густина імуногістохімічного забарвлення (в. од. опт. густини)
Фізіологічна вагітність	21	0,264±0,0015
29-32 тижні гестації		
Група 1Б (порівняння)	20	0,345±0,0015 pФВ<0,001 p2Б<0,001
33-36 тижнів гестації		
Група 2Б (порівняння)	20	0,364±0,0015 pФВ<0,001

Примітка. pФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; p2Б – вірогідність розбіжності середніх показників групи порівняння 1Б з групою порівняння 2Б.

Отже, отримані результати імуногістохімічного дослідження проапоптотичного протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок в даних групах спостереження є вищими порівняно з фізіологічною вагітністю, показники між собою статистично значущі ($p < 0,001$). Зауважимо, що і між двома досліджуваними термінами вагітності отримані показники проапоптотичного протеїну Вах в трофобласті хоріальних ворсинок є статистично значущими ($p < 0,001$).

Варто відзначити, що у групах порівняння з нормальним дозріванням хоріального дерева на тлі ЗДАВ кількісні параметри проапоптотичного протеїну Вах більші у зіставленні з групами порівняння 1В та 2В (нормальне дозрівання хоріального дерева плаценти у жінок без ЗДАВ), $p < 0,001$. Таким чином, відбувається підсилена продукція проапоптотичного протеїну Вах трофобластом хоріальних ворсинок в обох термінах вагітності у жінок зі ЗДАВ.

Експресії протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок у жінок зі ЗДАВ проілюстровані за допомогою рисунка 6.12.

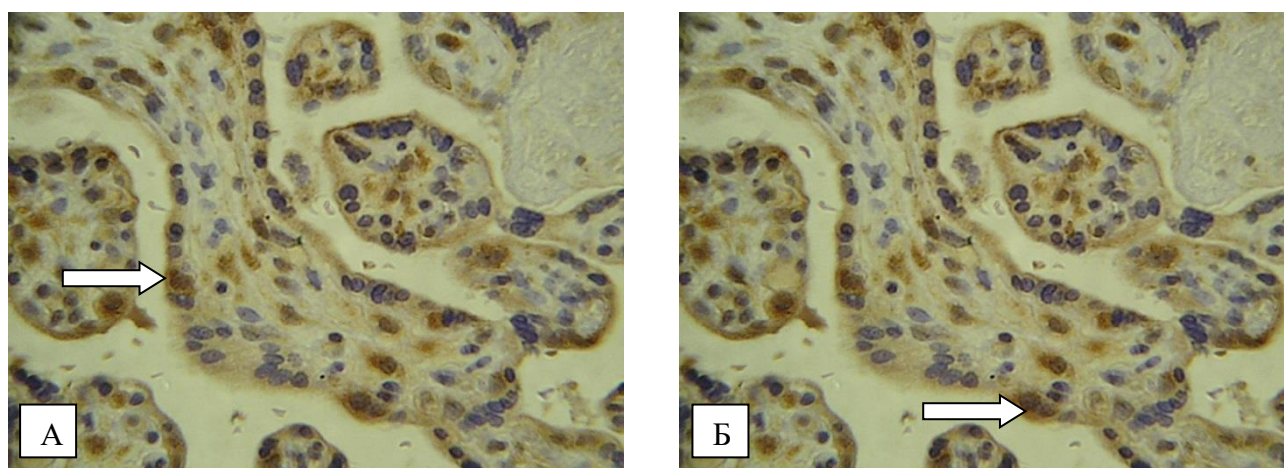


Рисунок 6.12 Експресія протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти з нормальним дозріванням у жінок з залізодефіцитною анемією (А – 30 тижнів вагітності; Б – 36 тижнів гестації). Імуногістохімічне типування з застосуванням антитіл проапоптотичного протеїну Вах (Polyclonal Rabbit Anti-Human Bax). Збільшення: Об.40^x, Ок.10^x

Резюме

Таким чином, проведене нами органометричне, гістологічне, гістохімічне та імуногістохімічне дослідження нормального дозрівання хоріального дерева плаценти в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних (ЗДАВ) у два терміни (29-32 та 33-36 тижнів гестації) показали, що ЗДАВ безпосередньо впливає на розвиток хоріального дерева плаценти.

В обох групах дослідження з нормальним дозріванням хоріального дерева плаценти у поєднанні зі ЗДАВ ступінь зрілості хоріального дерева не досягає рівня фізіологічної вагітності, $p < 0,001$. У термін гестації 29-32 тижнів гістологічно переважають проміжні зрілі та термінальні хоріальні ворсинки. Проміжні зрілі хоріальні ворсинки вкриті переважно СТ. Строма представлена щільно розташованими колагеновими волокнами, що характерно для обох вивчених термінів гестації. У термін вагітності 33-36 тижнів суттєво переважають термінальні хоріальні ворсинки, які вкриті винятково СТ. Для строми характерна велика кількість розширених капілярів. Для обох термінів вагітності фібриноід зустрічається у вигляді суцільного або іноді місцями переривчастого шару, який покриває ворсину на її площі ззовні. Характерним є високий відсоток трофобластичних та вільозних відростків, що пов'язано з підсиленням явищ регенерації ушкоджених ворсинок при впливі ЗДАВ.

За умов ЗДАВ синтетична функція трофобласта хоріальних ворсинок при нормальному дозріванні хоріального дерева плаценти знижується відносно продукції плацентарного гормону – плацентарного лактогену порівняно з фізіологічною вагітністю та групами нормального дозрівання хоріального дерева без ЗДАВ ($p < 0,001$).

На тлі ЗДАВ відбувається порушення синтезу хоріонічного гонадотропіну в терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів. Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін в обох групах дослідження досягає рівня фізіологічної вагітності ($p < 0,001$). Терміну гестації 29-32 тижнів притаманні особливо високі показники хоріонічного гонадотропіну ($p < 0,001$).

Для обох груп дослідження характерні низькі показники плацентарної лужної фосфатази та її активності в трофобласті хоріальних ворсинок порівняно з фізіологічною вагітністю ($p < 0,001$). Проте з наростанням терміну гестації спостерігається тенденція до зростання рівня хоріонічного гонадотропіну, рівня плацентарної лужної фосфатази та її активності ($p < 0,001$). У терміні гестації 33-36 тижнів фіксується зниження активності плацентарної лужної фосфатази при ЗДАВ порівняно з групою дослідження без ЗДАВ, коли будова хоріального дерева відповідає гестаційній нормі ($p < 0,001$).

Отримані дані ферменту 11β -HSD-2 в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти не досягають рівня фізіологічної вагітності ($p < 0,001$) у двох термінах гестації. Рівень ферменту 11β -HSD-2 у групах спостереження на фоні ЗДАВ для обох вивчених термінів гестації є нижчим порівняно з групами дослідження 1В та 2В (нормальне дозрівання хоріону без ЗДАВ), $p < 0,001$.

Показники віментину у фібробластах хоріальних ворсинок плаценти є вищими у термін гестації 33-36 тижнів у порівнянні з терміном вагітності 29-32 тижні ($p < 0,001$). Показники віментину у ендотеліоцитах хоріальних ворсинок плаценти є вищими у термін гестації 33-36 тижнів у порівнянні з терміном вагітності 29-32 тижні, $p < 0,001$. Проте для обох термінів гестації рівень віментину у фібробластах та ендотеліоцитах не досягає рівня фізіологічної вагітності ($p < 0,001$).

У групах спостереження на фоні ЗДАВ при нормальному дозріванні хоріальних ворсинок плаценти для обох вивчених термінів гестації рівень віментину у фібробластах та ендотеліоцитах є нижчим порівняно з групами дослідження 1В та 2В (нормальне дозрівання хоріону без ЗДАВ), $p < 0,001$.

Усереднені показники вільних аміногруп білків для обох вивчених термінів вагітності перевищують дані при фізіологічній вагітності, $p < 0,001$. Таким чином, на тлі ЗДАВ у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти з нормальними темпами дозрівання зростають процеси обмеженого протеолізу, тобто відбувається альтерація трофобласта, яку не видно при застосуванні забарвлення гематоксиліном та еозином.

Дослідження окиснювальної модифікації білків (ОМБ) у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти дає можливість виявити різновид альтерації структур, механізм якого пов'язаний зі зростанням рівня вільнорадикальних процесів. Коефіцієнти R/V (міра ОМБ) для обох термінів вагітності перевищують дані при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). При нормальному дозріванні хоріального дерева, коли у жінок виявлена ЗДАВ, відбувається альтерація трофобласта, яка розвивається за механізмом вільнорадикального ушкодження.

Показник Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок для обох вивчених термінів гестації вищий порівняно з фізіологічною вагітністю ($p < 0,001$). Між двома вивченими термінами вагітності показники Ki-67-позитивних ядер в трофобласті хоріальних ворсинок є статистично значущими ($p < 0,001$). Найбільша частота Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок зафіксована у жінок, які страждали на ЗДАВ і мали будову хоріального дерева плаценти, яка відповідала терміну гестації. Така особливість характерна для обох термінів гестації. Таким чином, у відповідь на гіпоксію в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти відбувається стимуляція проліферативних процесів.

Не знайдено розбіжностей середніх тенденцій обох груп і показників фізіологічної вагітності щодо оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на протиапоптотичний протеїн Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти для груп спостереження жінок зі ЗДАВ та будовою хоріального дерева, яке відповідає терміну гестації ($p > 0,05$). Показники протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти на тлі ЗДАВ для обох термінів гестації менші порівняно з групами дослідження 1В та 2В (нормальне дозрівання хоріального дерева плаценти без ЗДАВ). Водночас, розбіжності у середніх показниках між собою були не достовірними ($p > 0,05$).

Відбувається підсилена продукція проапоптотичного протеїну Вах трофобластом хоріальних ворсинок в обох термінах вагітності у жінок зі ЗДАВ.

Отримані показники проапоптотичного протеїну Вах у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок вищі порівняно з фізіологічною вагітністю ($p < 0,001$). Між двома вивченими термінами вагітності показники проапоптотичного протеїну Вах в трофобласті хоріальних ворсинок є статистично значущими ($p < 0,001$).

У групах дослідження з нормальним дозріванням хоріального дерева на тлі ЗДАВ кількісні параметри проапоптотичного протеїну Вах більші порівняно з групами дослідження 1В та 2В (нормальне дозрівання хоріального дерева плаценти у жінок без ЗДАВ), $p < 0,001$.

Основні положення даного розділу викладені у статтях [18, 19, 21, 23, 25, 35, 186], апробовані на наукових форумах [24, 29, 33, 36, 48], додатково відображені у патенті на корисну модель та раціоналізаторських пропозиціях [20, 22, 27, 32, 52].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Отримані в процесі дослідження результати та відомості з аналітичного огляду літератури дозволяють обговорити низку питань та зробити певні узагальнення щодо особливостей морфології передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти за умов поєднання зі ЗДАВ у два опрацьовані терміни 29-32 та 33-36 тижнів вагітності.

А.П. Милованов, вивчаючи патологічну анатомію плаценти, встановив, що за умов порушення дозрівання хоріального дерева може виникати недостатність посліду [93]. Поняття «недостатність посліду» використовують при неспроможності посліду виконувати своє призначення щодо забезпечення нормального внутрішньоутробного розвитку плода [7, 144]. Недостатність посліду може виникати при порушенні комплексу «хоріальне дерево/МПД», який прийнято називати плацентою [2, 3, 78]. Плацента забезпечує фіксацію плода в матці та метаболічне забезпечення плода. Виконання плацентою її основних функцій здійснюється по-різному і залежить від гестаційного терміну [53]. Саме тому хоріальне дерево плаценти повинно бути вивчене в аспекті її гестаційного віку [235]. Надзвичайно важливою є відповідність будови хоріального дерева плаценти терміну гестації [251]. Визначення механізмів формування недостатності посліду потребує диференційного підходу, тобто з урахуванням терміну гестації та ступеня зрілості хоріального дерева плаценти [45, 52]. Оцінювати гестаційну відповідність хоріального дерева плаценти необхідно беручи до уваги критерії терміну гестації [52], морфологію хоріальних ворсинок плаценти [220], перебудову стінок кровоносних судин (спіральних артерій), стан фібробластів та ендотеліоцитів, а також імуногістохімічні особливості [195]. Оцінка морфофункціонального стану плаценти є одним з найважливіших факторів, який дозволяє з'ясувати роль порушення дозрівання хоріального дерева плаценти в системі мати-плацента-плід щодо прогнозу стану плода [15]. У сучасній практиці патологоанатомів є

спостереження, коли в жінок реєструється передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ [57, 131]. Передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти відзначається при передчасних пологах та діагностується за збільшенням відсотка зрілих форм хоріальних ворсинок порівняно з гестаційною нормою [53]. Плацента з морфологічною картиною передчасного дозрівання хоріального дерева може потенціювати передчасні пологи [41]. Benirschke К. та співавтори у 2012 у своїх роботах вказали, що передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти реєструється при передчасних пологах у терміні вагітності 29-32 тижні з частотою близько 50%, а у терміні 33-36 тижнів – із частотою 33% [143]. Передчасне дозрівання хоріального дерева слугує морфологічною основою для виникнення хронічної недостатності посліду, оскільки виникає невідповідність між потребами плода та можливістю плаценти забезпечити ці потреби [38, 138]. Однією з причин передчасних пологів може бути порушення дозрівання структур плаценти, зокрема при наявності ознак передчасного «старіння» плаценти та ембріональних оболонок [189, 226].

Викладене вище дослідження присвячене вивченню впливу ЗДАВ на морфологічну картину передчасного дозрівання плаценти. Поєднання обох патологічних процесів ускладнює патоморфологічну діагностику нюансів ХПН. ПН при перериванні вагітності в останньому триместрі з морфологічними проявами передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти треба аналізувати як хронічну [120, 124]. У вагітних жінок з поєднанням передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти та ЗДАВ можливі серйозні ускладнення, що впливають на результат пологів [219].

Обрахунок морфометричних параметрів хоріального дерева в усіх групах дослідження у термін гестації 29-32 тижні показав, що в жодній групі дослідження ступінь зрілості хоріального дерева не досягає рівня фізіологічної вагітності ($p < 0,05$). Навіть при передчасному дозріванні сумарний відсоток зрілих типів хоріальних ворсинок становив: при ЗДАВ (основна група 1) – $86,5 \pm 0,84\%$, без анемії (група порівняння 1А) – $91,0 \pm 0,98\%$ (статистична

вірогідність розбіжності з фізіологічною вагітністю для обох вказаних груп дослідження значуща, тобто – $p < 0,05$). При цьому за поданим параметром фіксується також розбіжність між основною групою 1 та групою порівняння 1А ($p = 0,008$), тобто у термін гестації 29-32 тижні передчасне дозрівання при ЗДАВ у зіставленні з передчасним дозріванням без анемії характеризується меншим ступенем зрілості. На тлі ЗДАВ меншим є сумарний відсоток термінальних і термінальних «спеціалізованих» ворсинок, при цьому простежується переважання проміжних незрілих ворсинок. Нами було отримано і високий відсоток трофобластичних та вільозних відростків. На нашу думку, такі процеси пов'язані з підсиленням явищ регенерації ушкоджених ворсинок при ЗДАВ.

Передчасне дозрівання хоріального дерева у термін гестації 29-32 тижні – як при ЗДАВ, так і без анемії – характеризується збільшенням сумарного відсотка термінальних і термінальних «спеціалізованих» ворсинок, зниженням сумарного відсотка стовбурових ворсинок, зниженням відсотка ембріональних ворсинок. Під час аналізу отриманих морфометричних параметрів плацент в 33-36 тижнів гестації встановлено, що сумарний відсоток зрілих типів хоріальних ворсинок при передчасному дозріванні на тлі ЗДАВ (основна група 2) становив $89,1 \pm 0,78\%$, а при передчасному дозріванні без ЗДАВ (група порівняння 2А) – $93,7 \pm 0,94\%$. При цьому розбіжність з групою контролю для основної групи 2 є статистично значущою ($p = 0,006$), а для групи порівняння 2А – статистично не вірогідною ($p > 0,05$). Отже, передчасне дозрівання у термін гестації 33-36 тижні без анемії досягає у середньому фізіологічного рівня, тоді як на тлі ЗДАВ – не досягає.

Різниця у проявах передчасного дозрівання хоріального дерева між спостереженнями при ЗДАВ та без анемії у термін гестації 33-36 тижнів полягає у зменшенні відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок, у розподілі відсотків поміж проміжних ворсинок у бік незрілих, у збільшенні відсотка трофобластичних та вільозних відростків. На підставі отриманих даних ми робимо висновок, що суть передчасного дозрівання хоріального

дерева у термін гестації 33-36 тижні полягає, в основному, в зростанні сумарного відсотка ворсинок та відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок. З огляду на отримані результати нами розроблені практичні рекомендації для лікарів-патологоанатомів. З метою діагностики передчасного дозрівання хоріального дерева на тлі ЗДАВ рекомендується застосовувати інші цифрові параметри, тобто інші критерії норми, зокрема:

По терміну 29-32 тижні вагітності:

1. Для стовбурових «ранніх» хоріальних ворсинок замість нормативу 0,7-4,1% потрібно застосовувати критерій 2,4-5,8%;
2. Для стовбурових «пізніх» хоріальних ворсинок замість 1,6-9,4% потрібно застосовувати критерій 5,5-13,3%;
3. Для проміжних незрілих хоріальних ворсинок замість 4,5-14,7% потрібно застосовувати критерій 9,6-19,8%;
4. Для проміжних зрілих хоріальних ворсинок замість 25,8-49,4% потрібно застосовувати критерій 14,0-37,6%;
5. Для термінальних хоріальних ворсинок замість 23,3-48,7% потрібно застосовувати критерій 10,6-36,0%;
6. Для термінальних «спеціалізованих» хоріальних ворсинок замість 2,3-5,3% потрібно застосовувати критерій 0,8-3,8%.

По терміну 33-36 тижнів вагітності:

1. Для проміжних незрілих хоріальних ворсинок замість 1,1-5,1% потрібно застосовувати критерій 3,1-7,1%;
2. Для проміжних зрілих хоріальних ворсинок замість 8,4-32,4% потрібно застосовувати критерій 16,8-30,4%;
3. Для термінальних «спеціалізованих» хоріальних ворсинок замість 4,2-14,0% потрібно застосовувати критерій 1,2-9,1%.

Звичайні нормативи [53, 55] та скореговані для ЗДАВ нормативи діапазонів відсотків хоріальних ворсинок у терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів зазначені у додатку Ж.

У результаті досліджень Анчевої І.А. (2014) показано, що для дисфункції плаценти, асоційованої з дефіцитом заліза, є характерними помірно виражені зміни гормонального профілю у вигляді зниження продукції прогестерону та пролактину, а також тісний зв'язок дисфункції плаценти з наявністю проявів сидеропенічного синдрому [6]. Під час аналізу отриманих нами результатів щодо оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген в термін вагітності 37-40 тижнів та передчасних пологів з нормальним дозріванням хоріального дерева – як без ЗДАВ, так і з нею – нами зафіксовані вищі показники плацентарного лактогену в трофобласті хоріальних ворсинок відповідно в пізні терміни гестації. Отримані в цих групах спостереження результати знаходять віддзеркалення і в інших джерелах літератури [43]. Проте у жінок зі ЗДАВ відзначаємо менші показники плацентарного лактогену, ніж у спостереженнях без ЗДАВ. Опираючись на попередні дані про те, що передчасне дозрівання хоріального дерева характеризувалося переважанням відсоткового співвідношення «старших» за термін гестації хоріальних ворсинок, ми прогнозували, що показники плацентарного лактогену відповідно будуть близькими до фізіологічної вагітності. Проте отримані результати показують, що передчасне морфологічне дозрівання хоріального дерева не супроводжується передчасним гормональним дозріванням відносно плацентарного лактогену. Нами отримано показники плацентарного лактогену, які є близькими до нормального дозрівання хоріального дерева. Водночас відзначаємо, що при передчасному дозріванні хоріального дерева зберігається закономірність щодо зниження показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген в трофобласті ХВ на тлі ЗДАВ. Ця ж закономірність простежувалась і для нормального дозрівання хоріального дерева. Ми дійшли висновку, що в аспекті синтетичної функції трофобласта ХВ плаценти ЗДАВ має стримуючий ефект, незважаючи на встановлений факт переважання «старших» типів ворсинок.

Однією з причин передчасних пологів може бути також порушення продукції хоріонічного гонадотропіну трофобластом хоріальних ворсинок

плаценти [72]. Найвищі показники експресії хоріонічного гонадотропіну припадають на 10-11 тижнів гестації, а з плином вагітності поступово знижуються [264]. Враховуючи фізіологічне зниження хоріонічного гонадотропіну при фізіологічній вагітності, очікувалося, що показники хоріонічного гонадотропіну будуть незначними, особливо у пізні терміни гестації. Проте нами отримані такі показники хоріонічного гонадотропіну в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти, які досягають рівня фізіологічної вагітності зі значущою вірогідністю ($p < 0,05$). Показники рівня хоріонічного гонадотропіну в термін гестації 29-32 тижнів ($0,226 \pm 0,0020$, $p_{ФВ} < 0,001$) сягають рівня хоріонічного гонадотропіну при фізіологічній вагітності ($0,214 \pm 0,0023$). Враховуючи загальноприйняту інформацію про зниження вмісту гормону поступово до 37-го тижня вагітності [88, 93], на противагу, ми отримали особливо високі рівні хоріонічного гонадотропіну для терміну 29-32 тижнів вагітності в групі спостереження жінок із поєднанням передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти та ЗДАВ ($p_{ФВ} < 0,001$).

При порівнянні груп дослідження жінок зі ЗДАВ у 29-32 тижні вагітності ($0,228 \pm 0,0021$, $p_{ФВ} < 0,001$) та у 33-36 тижнів вагітності ($0,217 \pm 0,0018$, $p_{ФВ} < 0,001$), коли будова хоріального дерева відповідає терміну з фізіологічною вагітністю ($0,214 \pm 0,0023$), спостерігаємо статистично достовірне збільшення показників хоріонічного гонадотропіну. При передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти у жінок без будь-якої анемії зберігається закономірність зниження гормону до більш пізніх термінів вагітності. У термін 29-32 тижні вагітності ($0,249 \pm 0,0023$, $p_{ФВ} < 0,001$), а у термін гестації 33-36 тижнів ($0,232 \pm 0,0024$, $p_{ФВ} < 0,001$) отримані показники статистично значущі у порівнянні з групою контролю ($0,214 \pm 0,0023$). Ми дійшли висновку, що морфологічно встановлене передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти зовсім не свідчить про функціональну спроможність трофобласта хоріального дерева плаценти.

Інтерес науковців усе більше викликає вивчення кількісних та якісних показників фермента, але і водночас специфічного білка трофобласта –

плацентарної лужної фосфатази [126, 133]. В літературі описана її унікальна особливість – термостабільність. Ферментативна властивість плацентарної лужної фосфатази, на відміну від інших лужних фосфатаз, зберігається навіть після термічної обробки при 58°C [128]. При фізіологічній вагітності показник плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти є найвищим, ніж при передчасних пологах незалежно від рівня дозрівання хоріального дерева. Загалом, простежується тенденція до збільшення оптичної густини імуногістохімічного забарвлення плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок з плином вагітності. Ми дійшли висновку, що показники плацентарної лужної фосфатази трофобласта можуть віддзеркалювати ступінь дозрівання хоріального дерева плаценти, що частково знайшло своє відображення в різних джерелах літератури [126, 128, 143, 154]. Враховуючи отримані дані у спостереженнях жінок без анемії у термін гестації 29-32 тижнів ($0,186 \pm 0,0015$, $p_{\text{ФВ}} < 0,001$) та у 33-36 тижнів ($0,204 \pm 0,0016$, $p_{\text{ФВ}} < 0,001$) щодо передчасного дозрівання хоріального дерева, ми вважаємо, що передчасне морфологічне дозрівання хоріального дерева ще не свідчить про його адекватну синтетичну спроможність. Водночас спостерігається ще одна закономірність, яка є характерною для обох вивчених термінів гестації: при ЗДАВ суттєво знижується оптична густина імуногістохімічного забарвлення плацентарної лужної фосфатази, причому це стосується і спостережень передчасного дозрівання хоріального дерева (основна група 1 – $0,164 \pm 0,0015$, $p_{1A} < 0,001$; основна група 2 – $0,190 \pm 0,0014$, $p_{2A} < 0,001$).

При визначенні активності плацентарної лужної фосфатази у цитоплазмі вільозного ЦТ з застосуванням гістохімічного методу азосполучення ми отримали тенденцію, подібну до її показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення. Найвищі показники ферментативної активності плацентарної лужної фосфатази фіксуються при фізіологічній вагітності, що не суперечить даним літератури [128, 154]. Зауважуємо, що в нашому дослідженні активність плацентарної лужної фосфатази зростає з терміном гестації.

Разом з тим у термін гестації 33-36 тижнів закономірності змін активності плацентарної лужної фосфатази відповідають закономірностям її показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення – відбувається зниження активності ферменту при анемії вагітних. В свою чергу, така тенденція наштовхує на думку про стримуючий вплив ЗДАВ на дозрівання та синтетичну функцію плаценти в умовах ХПН.

Однак ми виявили цікаву особливість, що у термін гестації 29-32 тижні на активність плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок не впливає наявність у жінок ЗДАВ (основна група 1 – $0,124 \pm 0,0011$, $p < 0,001$; група порівняння 1А – $0,125 \pm 0,0014$, $p < 0,001$; група порівняння 1Б – $0,123 \pm 0,0014$, $p < 0,001$; група порівняння 1В – $0,121 \pm 0,0013$, $p < 0,001$). Наведений факт на сьогодні не має пояснення, про що вже йшла мова в різних джерелах літератури [126, 128, 133]. Кінцевого висновку досі не було сформовано, проте ми припускаємо, що протеїн “плацентарна лужна фосфатаза” з плином вагітності можливо змінює свою будову та функції, не змінюючи антигенні властивості. Таким чином, фосфатазна активність плацентарної лужної фосфатази може коливатися з плином вагітності.

На сучасному етапі одним з найбільш обґрунтованих молекулярних механізмів природної стимуляції пологів є зростання кількості та активності в плаценті ферменту 11β -HSD-2 [230], які проявляються як підсиленою скоротливою діяльністю матки, так і розкриттям її шийки. Опираючись на показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на 11β -HSD-2, ми вважаємо, що отримані дані дають уявлення про можливий механізм виникнення передчасних пологів. Встановлено оптичну густину імуногістохімічного забарвлення на фермент 11β -HSD-2 в групах 1Б ($0,167 \pm 0,0018$, $p < 0,001$), 1В ($0,178 \pm 0,0017$, $p < 0,001$), 2Б ($0,186 \pm 0,0018$, $p < 0,001$) та 2В ($0,198 \pm 0,0016$, $p < 0,001$). Отримані показники статистично значущі у порівнянні з групою контролю. Подібна тенденція відзначається і в інших роботах науковців [55, 160, 259]. Рівень 11β -HSD-2 у зазначених групах у термін вагітності 29-32 тижні нижче ($p < 0,001$), ніж у термін 33-36 тижнів.

Науковці, вивчаючи екстрагенітальну патологію у жінок, в яких сталися передчасні пологи, вказують, що є цілий ряд причин передчасних пологів [134, 190, 237]. Базуючись на висновках таких спостережень, ми припускаємо, що причинами передчасних пологів у групах жінок із нормальними темпами дозрівання хоріального дерева та без ЗДАВ усе ж є не патологія плаценти.

Порівнюючи отримані дані ферменту 11β -HSD-2 основної групи 1 ($0,281 \pm 0,0018$, $p1A=0,005$, $p1B<0,001$, $p1B<0,001$) та основної групи 2 ($0,283 \pm 0,0017$, $p2A=0,007$, $p2B<0,001$, $p2B<0,001$) із показниками в групах порівняння по термінах вагітності, встановлено статистично вірогідні показники між собою. Також ми помітили закономірність, що в групах жінок на тлі ЗДАВ показники ферменту 11β -HSD-2 завжди нижчі порівняно з групами жінок без будь-якої анемії, навіть незважаючи на морфологічне випередження темпів розвитку хоріального дерева плаценти.

Таким чином, ми вважаємо, що передчасні пологи у зазначених групах спостереження, скоріше за все, пов'язані саме з підсиленою продукцією плацентою ферменту 11β -HSD-2. У літературі нами знайдено інформацію про те, що ЗДАВ спричиняє пошкодження поверхні трофобласта [54, 99]. Отримані нами дані частково перегукуються: у обох групах спостереження передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ рівень 11β -HSD-2 статистично перевищує рівень ферменту в групах жінок без ЗДАВ ($p1A=0,005$, $p1B<0,001$, $p2A=0,007$, $p2B<0,001$).

У своїх роботах Анчева І.А. при дослідженні особливостей васкулярно-ендотеліального фактора росту в плаценті у жінок з дисфункцією та анемією дійшла висновку, що імуногістохімічне дослідження мезенхімального фактора віментин виявило виражену інтенсивність експресії останнього в базальній мембрані судин ворсинок з ангіогенезом [5]. У нашому дослідженні ми отримали показники інтенсивності експресії віментину у фібробластах та ендотеліюцитах стромального компонента проміжних зрілих і термінальних ворсинок хоріального дерева плаценти.

У літературних джерелах ми знайшли інформацію про те, що на тлі ЗДАВ у клітинах Гофбауера в середньому відзначається менш інтенсивна трансформація мономера Вах в гомодимер Вах-Вах, ніж за відсутності анемії. Це призводить до виживання більшої кількості клітин Гофбауера у ворсинах плаценти, і є одним з факторів порушення дозрівання хоріального дерева, а саме – ознакою незрілості плаценти [43, 55]. Оскільки предметом нашого дослідження було саме передчасне дозрівання хоріального дерева, то встановлення кількісних характеристик клітин Гофбауера не мало статистичного значення через малу кількість незрілих ворсинок у більшості груп дослідження. Відзначимо тільки те, що імуногістохімічне забарвлення на віментин в клітинах Гофбауера було слабким, зокрема оптична густина імуногістохімічного забарвлення коливалася в межах 0,064-0,088 в. од. опт. густини.

Цитоплазма ендотеліоцитів строми проміжних зрілих і термінальних ворсинок хоріального дерева плаценти забарвлювалася інтенсивніше порівняно з фібробластами. Також ми помітили, що в межах однієї і тої самої кровоносної судини був великий діапазон значень оптичної густини імуногістохімічного забарвлення ендотеліоцитів. На нашу думку, отримані дані свідчать про відчутно різний ступінь зрілості клітин строми проміжних зрілих і термінальних ворсинок хоріального дерева плаценти. Розподіл забарвлення на віментин мав винятково дрібногранулярний характер. Показники експресії віментину як у фібробластах, так і в ендотеліоцитах є найбільшими при фізіологічній вагітності (відповідно $0,244 \pm 0,0016$; $0,448 \pm 0,0029$). У групах спостереження з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти без ЗДАВ у 29-32 тижнів вагітності ($0,176 \pm 0,0014$, $p < 0,001$) та у 33-36 тижнів вагітності ($0,202 \pm 0,0015$, $p < 0,001$) показники віментину не досягають рівня, характерного для фізіологічної вагітності. Отже, ми отримуємо ще одні достатньо переконливі свідчення про нетотожність обох понять «передчасне дозрівання» та «повноцінність функцій». Нами простежується закономірність для рівнозначних за патологією груп дослідження: експресія віментину у 33-36

тижнів вагітності є вищою порівняно з терміном вагітності 29-32 тижні. У межах нашого дослідження ця інформація є ключовою, оскільки вона в комплексі з іншими згаданими вище даними підтвердила нашу гіпотезу, що вивчення експресії віментину у фібробластах та ендотеліюцитах проміжних зрілих і термінальних ворсинок хоріального дерева плаценти може віддзеркалювати ступінь зрілості строми хоріальних ворсинок плаценти. У своїх роботах Scherholz P.L. та колектив авторів також досліджували експресію віментину в судинах хоріального дерева плаценти [249], вважаючи його цінним інструментом виявлення патологічних змін морфології плаценти.

В обох основних групах спостереження при поєднанні ЗДАВ та передчасного дозрівання хоріального дерева найнижчі середні величини оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на віментин фіксувались у фібробластах: так у 29-32 тижні вагітності – $0,118 \pm 0,0010$, $p_{FB} < 0,001$, а в 33-36 тижнів вагітності – $0,146 \pm 0,0010$, $p_{FB} < 0,001$. Цікавими виявились і показники експресії віментину в фібробластах у спостереженнях, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації, адже вони були вищі в обидва терміни вагітності ($p < 0,001$) порівняно з основними групами спостереження. Отож, результати нашого дослідження показали особливості впливу ЗДАВ на структури плаценти в залежності від стану дозрівання хоріального дерева плаценти. Про вплив ЗДАВ на структури плаценти згадувалося і в роботах інших науковців [4, 6, 12, 64].

Середні значення експресії віментину у групах спостереження ЗДАВ з передчасним дозріванням хоріального дерева в термін гестації 29-32 тижні ($0,301 \pm 0,0026$, $p_{1A} < 0,001$, $p_{1B} < 0,001$) та 33-36 ($0,352 \pm 0,0029$, $p_{2A} < 0,001$, $p_{2B} < 0,001$), а також в групах жінок із нормальним дозріванням хоріального дерева у 29-32 тижні гестації ($0,308 \pm 0,0025$, $p_{FB} < 0,001$, $p_{2B} < 0,001$) та 33-36 тижнів ($0,349 \pm 0,0026$, $p_{FB} < 0,001$) відзначалися найнижчі показники віментину в ендотеліюцитах кровоносних судин хоріальних ворсинок плаценти.

За результатами гістохімічної методики на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikava найбільш інтенсивно забарвлюється

трофобласт хоріальних ворсинок, ендотелій кровоносних судин, субендотеліальна базальна мембрана, субепітеліальна базальна мембрана та сполучно-тканинні волокна. У джерелах літератури ми виявили інформацію про те, що вивчення процесів обмеженого протеолізу в структурах плаценти при різних патологічних процесах, дає уявлення про можливі механізми виникнення патології плаценти [67, 68, 71]. Раніше згадана гістохімічна методика використовувалася для визначення загального білка в тканинах, оскільки стехіометрично дозволяла виявляти не тільки загальну кількість власне білка, а кількість неприхованих (вільних) аміногруп білків. Обмежений протеоліз полягає в тому, що протеїни в тканині можуть втрачати здатність виконувати свої функції, навіть незважаючи на достатню кількість білка (що може бути показано, наприклад, за допомогою методики з бромфеноловим синім за Бонхегом). Це стосується як білків-ферментів, так і структурних білків або сигнальних молекул протеїнової природи чи гормонів. Таким чином, гістохімічне визначення обмеженого протеолізу є одним з тонких методів встановлення однієї з форм альтерації структур [120, 143]. Ми отримали показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок при фізіологічній вагітності, які в середньому є нижчими у порівнянні з усіма групами дослідження ($0,164 \pm 0,0014$, $p < 0,001$). Найбільші показники рівня обмеженого протеолізу встановлено в обох основних групах дослідження – поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева. Для терміну гестації 29-32 тижнів показник дорівнював $0,245 \pm 0,0018$ ($p_{ФВ} < 0,001$), а для 33-36 тижнів – $0,243 \pm 0,0020$ ($p_{ФВ} < 0,001$), що в 1,49 раза перевищує показник при фізіологічній вагітності. Для обох вивчених термінів гестації (29-32 тижнів – $0,214 \pm 0,0019$, ($p < 0,001$); 33-36 тижнів – $0,216 \pm 0,0019$, ($p < 0,001$)) в групах спостереження зі ЗДАВ в поєднанні з нормальною будова хоріального дерева рівень обмеженого протеолізу є вищим порівняно з групами без ЗДАВ. Висока інтенсивність процесів обмеженого протеолізу була встановлена в

інтервільозному фібриноїді плаценти при передчасних пологах [71, 105, 106]. Окрім цього, отримані нами докази, що ЗДАВ інтенсифікує процеси вільного протеолізу знаходять своє віддзеркалення в роботах інших науковців [67, 68, 103].

Сухих Г.Т. та співавтори (2015) дійшли висновку, що окиснювальний стрес призводить до підвищення рівня апоптозу у ворсинках плаценти, а також що апоптозу можуть підлягати не тільки клітини трофобласта, але і клітини строми ворсин [113]. Нами була поставлена методика з бромфеноловим синім за Mikel Calvo для вивчення процесів ОМБ. Суть ОМБ полягає в тому, що окиснення аміногруп білків призводить до зміни співвідношення між аміно- та карбоксильними групами в них. Це співвідношення можна оцінити біохімічним методом і за допомогою гістохімічної методики на «кислі» та «основні» білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Завдяки цій методиці білки забарвлюються в різні кольори залежно від їхніх властивостей за співвідношенням аміно- та карбоксильних груп [47, 67]. Найбільш інтенсивно забарвлюються клітини крові, особливо еритроцити, менш інтенсивно – трофобласт хоріальних ворсинок і зовсім незначно – ендотелій кровоносних судин, базальні мембрани (як субендотеліальна, так і субепітеліальна) та сполучно-тканинні волокна. Метою цього дослідження було виявити різновид альтерації структур плаценти, механізм якої пов'язаний зі зростанням рівня вільнорадикальних процесів. У середньому коефіцієнт R/V (показник, який відображає рівень процесів ОМБ [68]) у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти при фізіологічній вагітності є нижчим ($1,02 \pm 0,012$, $p < 0,001$) порівняно із усіма групами дослідження. Найвищі показники рівня ОМБ в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти для обох термінів гестації (29-32 тижнів – $1,34 \pm 0,016$, $p_{ФВ} < 0,001$; у 33-36 тижнів – $1,38 \pm 0,021$, $p_{ФВ} < 0,001$) фіксуються при поєднанні передчасного дозрівання хоріального дерева та ЗДАВ. Нами встановлено, що рівень ОМБ у цитоплазмі трофобласта у випадках, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації, для обох вивчених термінів гестації у групах зі ЗДАВ є вищим ($1,22 \pm 0,019$, $p < 0,001$;

1,23±0,019, $p<0,001$), ніж без анемії. Отримані нами результати перегукуються з результатами наукових досліджень ряду авторів [67, 68, 71, 86, 103].

Відомо, що проліферативні процеси у вільозному трофобласті відбуваються тільки в цитотрофобластичних клітинах [143]. Цитотрофобластичні клітини також називають камбіальними, або поліпотентними клітинами. Таким чином, процеси зростання клітинної маси трофобласта відбуваються за рахунок проліферації ЦТ [61, 77, 101]. Останнім часом вважають, що антиген Ki-67 є надійним маркером вивчення процесів регуляції клітинної маси вільозного трофобласта [58, 123, 143, 232]. Ki-67-позитивні ядра трофобласта одно- або двоядерних клітинин вільозного ЦТ нам траплялися в усіх групах дослідження, але значно частіше порівняно зі спостереженнями при фізіологічній вагітності ($p<0,001$). Найбільша частота Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок зафіксована у жінок, які страждали на ЗДАВ та мали будову хоріального дерева, що відповідала терміну гестації ($75\pm1,8$, $p<0,001$; $62\pm1,5$, $p<0,001$).

Ми також отримали дані, що у термін гестації 29-32 тижні фіксувалися більш високі показники Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок ($p<0,05$), ніж у термін 33-36 тижнів вагітності. Виявлена закономірність про темпи проліферативних процесів протягом вагітності знайшла своє відображення і в деяких спостереженнях інших авторів, зокрема, що більш високі темпи проліферації відбуваються у раніші терміни вагітності [53, 55, 120]. Ця закономірність підтверджується також і середніми цифрами кількості Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок у спостереженнях без анемії, коли будова хоріального дерева відповідала терміну гестації (у 29-32 тижнів гестації – $15\pm0,9$, $p<0,001$; у 33-36 тижнів гестації – $9\pm0,6$, $p<0,001$). Для обох основних груп дослідження при поєднанні ЗДАВ та передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти були зафіксовані доволі високі показники частоти Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок (у 29-32 тижнів гестації – $68\pm1,4$, $p<0,001$; у 33-36 тижнів гестації – $54\pm1,3$, $p<0,001$). Причому і тут зберігалася тенденція щодо вищих показників у

більш ранні терміни гестації ($p < 0,001$). У жінок зі ЗДАВ та будовою хоріального дерева, яка відповідала терміну гестації, так і у жінок зі ЗДАВ за умови передчасного дозрівання хоріального дерева кількість Ki-67-позитивних ядер трофобласта хоріальних ворсинок вдвічі більша ($p < 0,001$), ніж у жінок без ЗДАВ при передчасному дозріванні хоріального дерева. Таким чином, передчасне дозрівання хоріального дерева як у поєднанні зі ЗДАВ, так окремо призводить до інтенсифікації проліферативних процесів у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти.

Регуляція процесів апоптозу в клітинах плаценти зводиться до протистояння двох основних протеїнів – Вах та Bcl-2 [58, 145]. Група Bcl-2 протеїнів включає ряд білків, одні з яких володіють проапоптотичними властивостями, а інші – протиапоптотичними [77, 143]. Білок Bcl-2 знаходять у мембранах мітохондрій, ендоплазматичного ретикулуму та в оболонці ядра [203].

Показники протиапоптотичного протеїну Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок вказують, що при фізіологічній вагітності (37-40 тижнів гестації – $0,326 \pm 0,0016$) фіксується високий рівень експресії цього антигену. Оптична густина імуногістохімічного забарвлення має відносно рівномірний характер у різних типах хоріальних ворсинок. В обох основних групах дослідження при поєднанні ЗДАВ та передчасного дозрівання хоріального дерева (у 29-32 тижнів гестації – $0,301 \pm 0,0015$, $p < 0,001$; у 33-36 тижнів гестації – $0,304 \pm 0,0012$, $p < 0,001$) рівень протиапоптотичного протеїну Bcl-2 був нижчим, ніж при фізіологічній вагітності. Цікаво, але в усіх інших групах дослідження ми не знайшли розбіжностей у середніх тенденціях відносно показників фізіологічної вагітності ($p > 0,05$). Рівень експресії антигену Вах доволі сильно варіює від ворсинки до ворсинки та навіть у межах однієї ворсинки. Нами отримано показники, які демонструють, що процеси Вах-залежного апоптозу трофобласта присутні у хоріальних ворсинках і за фізіологічної вагітності (37-40 тижнів – $0,264 \pm 0,0015$). Віддзеркалення отриманих результатів стосовно того, що процеси Вах-залежного апоптозу

відбуваються за фізіологічних умов та різноманітної патології (ЗДАВ, преекслампсія, міхуровий занесок) є і в роботах різних науковців [88, 101, 143, 145, 203].

В групах спостереження жінок без анемії, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації (у 29-32 тижнів – $0,267 \pm 0,0012$, $p > 0,05$; у 33-36 тижнів – $0,268 \pm 0,0014$, $p > 0,05$), середні показники процесів Вах-залежного апоптозу не відрізняються від фізіологічної вагітності (37-40 тижнів – $0,264 \pm 0,0015$). Щодо жінок зі ЗДАВ та з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти показники експресії протеїну Вах (у 29-32 тижнів гестації – $0,409 \pm 0,0016$, $p < 0,001$; 33-36 тижнів гестації – $0,412 \pm 0,0017$, $p < 0,001$) є найвищими у зіставленні з фізіологічною вагітністю та усіма іншими групами порівняння. Вивчаючи вплив ЗДАВ на структури плаценти, Костюк В.М. дійшов висновку, що ЗДАВ потенціює процеси Вах-залежного апоптозу [77]. Ми ж отримали дані, що як окремо ЗДАВ, так і при поєднанні з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти процеси Вах-залежного апоптозу в трофобласті хоріальних ворсинок є максимально вираженими.

Отже, узагальнюючи результати проведеного дослідження, можна зробити висновок, що для породіль з передчасним дозріванням хоріального дерева плаценти на тлі ЗДАВ повинні застосовуватися інші параметри гестаційної норми відсотків певних типів хоріальних ворсинок порівняно з іншими видами порушення дозрівання хоріального дерева плаценти (уповільнене дозрівання хоріальних ворсинок, утворення ненормальних типів ворсинок) [41, 143]. Оцінювати ступінь зрілості хоріального дерева плаценти потрібно встановивши відповідність хоріального дерева за допомогою класифікації порушень дозрівання хоріального дерева [53].

Передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти треба розглядати як одну з форм ХПН, яка широко обговорюється в світі [218, 253]. І передчасні пологи, і передчасне дозрівання хоріального дерева можуть бути генетично детермінованою патологією [82, 87, 210].

Проблема розвитку хоріального дерева плаценти призводить до ранніх неонатальних втрат та мертвонародження [170, 177]. Передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти в сполученні зі ЗДАВ є водночас і медичною, і соціальною проблемою, яка спричиняє передчасні пологи, переривання вагітності, часто – незворотні наслідки для плода, мертвонародження [69, 162]. Питання діагностики порушення дозрівання хоріального дерева плаценти в поєднанні зі ЗДАВ вимагає залучення лікарів різних спеціальностей, працівників охорони здоров'я та науковців [114].

Передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти в поєднанні зі ЗДАВ є однією з причин стійкого від'ємного приросту на території України у жінок з плацентарною дисфункцією та з обтяженим акушерським анамнезом [124].

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено вирішення актуального завдання вдосконалення патологоанатомічної діагностики передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних з урахуванням гестаційного аспекту та уточненням окремих особливостей розвитку зазначеної патології:

1. При залізодефіцитній анемії вагітних у випадках передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти присутні всі головні гістологічні ознаки випередження розвитку хоріального дерева плаценти відносно гестаційних нормативів для термінів вагітності 29-32 та 33-36 тижнів. Водночас особливістю передчасного дозрівання при залізодефіцитній анемії вагітних є його менші темпи, що проявляється змінами відсотків певних типів ворсинок, зокрема у термін 29-32 тижнів вагітності збільшенням (в 2,6 раза) відсотка проміжних незрілих ворсинок та низьким сумарним відсотком (в 1,4 раза) термінальних ворсинок ($p < 0,001$), а в термін 33-36 тижнів гестації – зменшенням відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок (в 1,7 раза) та змінами розподілу відсотків поміж проміжних ворсинок у бік незрілих проміжних ворсинок (в 2,4 раза), а також у збільшенні (в 3,09 раза) відсотка трофобластичних і вільозних відростків ($p < 0,001$).

2. Особливістю хоріального дерева плаценти при його передчасному дозріванні на фоні залізодефіцитної анемії є те, що в термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів за імуногістохімічними даними рівні ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази є близькими до фізіологічних параметрів норми терміну гестації 37-40 тижнів. Це пояснює запуск передчасних пологів у жінок з залізодефіцитною анемією при передчасному дозріванні хоріальних ворсинок плаценти.

3. При передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних змінюється продукція специфічних білків трофобласта. Зокрема, у два терміни гестації 29-32 та 33-36 тижнів відбувається

парадоксально низька продукція плацентарного лактогену трофобластом хоріальних ворсинок (в 1,2 та 1,33 раза відповідно), а продукція хоріонічного гонадотропіну вища, ніж при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). При цьому як продукція плацентарної лужної фосфатази (в 2,1 та 1,8 раза відповідно), так і її активність (в 1,88 та 1,58 раза відповідно) при передчасних пологах є нижчими, ніж при фізіологічній вагітності ($p < 0,001$). Щодо активності плацентарної лужної фосфатази в трофобласті хоріальних ворсинок фіксувалася відмінність у середніх показниках для термінів гестації 29-32 та 33-36 тижнів. Зокрема, у термін гестації 33-36 тижнів закономірність змін активності плацентарної лужної фосфатази відповідає закономірності її продукції трофобластом хоріальних ворсинок плаценти, а саме – відбувається зниження активності ферменту при анемії вагітних. Однак у термін гестації 29-32 тижні активність плацентарної лужної фосфатази у трофобласті хоріальних ворсинок залишається низькою незалежно від наявності чи відсутності коморбідного стану залізодефіцитної анемії вагітних.

4. У стромі проміжних і термінальних ворсинок плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних та передчасному дозріванні за імуногістохімічними даними фіксується зниження експресії віментину в цитоплазмі фібробластів (в 2,07 та 1,67 раза відповідно) та ендотеліоцитів (в 1,48 та 1,27 раза відповідно) в обидва терміни гестації (29-32 та 33-36 тижнів), що проявляється у зменшенні оптичної густини імуногістохімічного забарвлення ($p < 0,001$). Такі зміни можна розцінити як порушення дозрівання стромы хоріальних ворсинок.

5. При поєднанні передчасного дозрівання хоріального дерева та залізодефіцитної анемії інтенсифікуються процеси обмеженого протеолізу (в 1,49 та 1,48 раза відповідно) та окиснювальної модифікації білків (в 1,3 та 1,35 раза відповідно) у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок плаценти ($p < 0,001$). Зазначена особливість характерна для обох вивчених термінів гестації – 29-32 та 33-36 тижнів, тобто не залежить від термінів гестації у вказаному діапазоні.

6. Залізодефіцитна анемія вагітних та передчасне дозрівання хоріального дерева плаценти як окремо, так і в поєднанні призводять до інтенсифікації проліферативних процесів у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти. Зокрема, це підтверджено зростанням (у 22,6 раза та 18 разів відповідно) відсотка Ki-67-позитивних ядер у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти ($p < 0,001$). Поєднання залізодефіцитної анемії вагітних і передчасного дозрівання хоріального дерева зумовлює зниження (в 1,08 та 1,07 раза відповідно) імуногістохімічного забарвлення на протиапоптотичний протеїн Bcl-2 у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок ($p < 0,001$). Вах-залежний апоптоз у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти зростає (в 1,54 та 1,56 раза відповідно) як при залізодефіцитній анемії вагітних, так і при передчасному дозріванні хоріальних ворсинок плаценти, причому при їхньому поєднанні цей процес є максимально вираженим.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ:

1. Албота ОМ. Деякі аспекти залізодефіцитної анемії у вагітних. Здоровье женщины. 2015;8:82-4.
2. Антипкин ЮГ, Задорожная ТД, Парницкая ОИ, редактор. Патология плаценты (современные аспекты): монография. Киев; 2016. 124 с.
3. Анчева ИА. Клиническая характеристика плацентарной дисфункции с позиции тенденций современного акушерства (обзор литературы). Буковинський медичний вісник. 2016;20(1):196-9.
4. Анчева ІА. Експресія нітроксинтази в плацентарній тканині при залізодефіцитній анемії. Галицький лікарський вісник. 2014;21(3):10-2.
5. Анчева ІА. Імуногістохімічні особливості васкулярно-ендотеліального фактора росту (VEGF) в плаценті у жінок з дисфункцією плаценти та анемією. Експериментальна і клінічна медицина. 2014;4:11-4.
6. Анчева ІА. Патогенетичне обґрунтування корекції дисфункції плаценти, асоційованої із залізодефіцитною анемією. Буковинський медичний вісник. 2014;18(3):10-3.
7. Артеменко ВВ. Современные аспекты прогнозирования тяжелых форм плацентарной дисфункции. Здоровье женщины. 2013;7:114-5.
8. Бабаева ГИ. Возможные причины и прогностические критерии развития плацентарной недостаточности. Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2013;8(2):97-100.
9. Багрій ММ, Діброва ВА, редактори. Методики морфологічних досліджень: монографія. Вінниця: Нова книга; 2016. 328 с.
10. Бойко ВІ, Лопатка КМ. Диференційований підхід до діагностики і корекції повторної плацентарної дисфункції. Здоровье женщины. 2015;3:76-7.
11. Вдовиченко ЮП, Бабкина ТМ, Волик НК, Марченко АН. Значение оценки импульсной доплерометрии сосудов маточно-фетоплацентарного комплекса при плацентарной дисфункции. Здоровье женщины. 2013;9:87-90.

12. Вдовиченко ЮП, Гопчук ОМ. Анемія вагітних – фактор ризику розвитку акушерської та перинатальної патології (огляд літератури). Здоровье женщины. 2016;3:62-5.

13. Вдовиченко ЮП, Гопчук ОМ. Залізодефіцитні стани в акушерстві і гінекології. Здоровье женщины. 2017;6:53-6.

14. Вдовиченко ЮП, Маркевич ВВ. Вікові аспекти плацентарної дисфункції. Педіатрія, акушерство та гінекологія. 2011;73(6):81-3.

15. Веропотвелян ПН, Веропотвелян НП, Гужевская ИВ, Цехмистренко ИС, Аксентьев ОО. Редкая патология плаценты – ее мезенхимальная дисплазия. Здоровье женщины. 2013;7:106-11.

16. Гаврилюк АО, Король ТМ, Даценко ГВ, Шабала ЮО. Патоморфологічні особливості розвитку фетоплацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії. Вісник Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова. 2016;20(2):498-501.

17. Гарвасюк О.В. Імуногістохімічне дослідження 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті плаценти в поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних у термін 33-36 тижні гестації. В: Матеріали XXII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих учених; 2018 Кві 23-25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 323.

18. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Плацентарна лужна фосфатаза в трофобласті плаценти вагітних із залізодефіцитною анемією за умов передчасного дозрівання хоріального дерева. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2017;16(1):11-6.

19. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС, Ташук КГ. Імуногістохімічна концентрація плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасному дозріванні хоріального дерева. Буковинський медичний вісник. 2017;21(1):34-8.

20. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Використання термопоту для демаскування антигенів при виконанні імуногістохімічних реакцій. Раціоналізаторська пропозиція № 7/18. Чернівці: БДМУ; 2018.

21. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Гістохімічні особливості обмеженого протеолізу та окиснювальної модифікації білків у трофобласті плаценти при поєднанні передчасного дозрівання хоріального дерева та залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(4):24-9.

22. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Застосування хімічної фіксації препаратів-відбитків у парах параформальдегіду для вдосконалення способу діагностики індексу окиснюваної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Раціоналізаторська пропозиція № 6/18. Чернівці: БДМУ; 2018.

23. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Імуногістохімічна кількісна оцінка 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти на фоні залізодефіцитної анемії вагітних. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2017;7(2):56-60.

24. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази при передчасному дозріванні хоріального дерева у вагітних із анемією. В: Матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини; 2014 Лис 26-17; Чернівці.

25. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Морфометричні параметри передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у гестаційному аспекті. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2015;5(2):81-5.

26. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Нові сучасні підходи щодо мікроскопічної діагностики окремих типів ушкоджень поверхні трофобласта хоріальних ворсинок плаценти. В: Нечаїв С, редактор. Матеріали XV Конгресу СФУЛТ; 2014 Жов 16-18; Чернівці. Українські медичні вісті. 2014;11(1-4):468.

27. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Спосіб для виконання різних імуногістохімічних реакцій на одному предметному скельці. Раціоналізаторська пропозиція № 8/18. Чернівці: БДМУ; 2018.

28. Гарвасюк ОВ, Паранюк ЮД. Дослідження хоріонічного гонадотропіну у трофобласті плаценти у вагітних із залізодефіцитною анемією

при передчасному дозріванні хоріального дерева у термін гестації 33-36 тижнів. Хист. 2017;19:305.

29. Гарвасюк ОВ, Петроченков ГП, Мазур ЯІ. Вплив залізодефіцитної анемії вагітних на кількісні параметри віментину в ендотеліоцитах хоріальних ворсинок плаценти в гестаційному аспекті. В: «BIMCO Journal» - Збірник матеріалів Буковинського міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих учених, BIMCO 2018; с. 275.

30. Гарвасюк ОВ. Активність та імуногістохімічна концентрація плацентарної лужної фосфатази в трофобласті плаценти з передчасним дозріванням у вагітних на фоні залізодефіцитної анемії у термін гестації 33-36 тижні. В: Матеріали XXI Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих учених; 2017Кві24-26; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2017, с. 323.

31. Гарвасюк ОВ. Дослідження 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті плаценти з передчасним дозріванням хоріального дерева у вагітних із залізодефіцитною анемією вагітних в термін гестації 29-32 тижнів вагітності. В: Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(3):27.

32. Гарвасюк ОВ. Застосування предметних скелець з електричним принципом клітинної адгезії для вдосконалення способу діагностики індексу окиснюваної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Раціоналізаторська пропозиція № 9/18. Чернівці: БДМУ; 2018.

33. Гарвасюк ОВ. Дослідження окиснювальної модифікації білків в трофобласті плаценти із передчасним дозріванням хоріальних ворсинок в поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних в термін гестації 33-36 тижнів вагітності. В: Матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині; 2019 Жов 24-5; Чернівці. Чернівці; 2019, с. 43-4.

34. Гарвасюк ОВ. Морфологічні особливості хоріального дерева при його передчасному дозріванні у жінок із залізодефіцитною анемією у термін гестації 33-36 тижні. Хист. 2015;17:257.

35. Гарвасюк ОВ. Імуногістохімічне дослідження процесів регуляції клітинної маси вільозного трофобласта при залізодефіцитній анемії вагітних та передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти. Буковинський медичний вісник. 2018;22(3):8-13.

36. Гарвасюк ОВ. Імуногістохімічне дослідження протиапоптотичного протеїну Bcl-2 при залізодефіцитній анемії вагітних та передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти у 29-32 тижні гестації. В: «BIMCOJornal» - Збірник матеріалів Буковинського міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих учених, BIMCO 2019; с.285.

37. Герман ЛВ, Каліновська ІВ. Диференційний підхід до лікування плацентарної дисфункції у вагітних із невиношуванням. Клінічна та експериментальна патологія. 2014;13(4):32-6.

38. Герман ЛВ, Каліновська ІВ. Особливості плацентарного кровотоку у вагітних із невиношуванням. Буковинський медичний вісник. 2015;19(1):40-4.

39. Герман ЛВ, Каліновська ІВ. Оцінка гормонального стану фетоплацентарного комплексу у вагітних з невиношуванням. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2015;5(1):56-60.

40. Глуховец БИ, Глуховец НГ, Тарасов ВН, Мезин ВЯ. Патоморфологические и гормональные критерии в диагностике причин самопроизвольных выкидышей. Архив патологии. 2001;63(5):31-6.

41. Глуховец БИ, Глуховец НГ. Патология последа. Санкт-Петербург: Грааль; 2002. 448 с.

42. Гошовська АВ, Бирчак ІВ, Гошовський ВМ. Профілактика плацентарної дисфункції у жінок груп ризику. оцінка результатів. Буковинський медичний вісник. 2016;20(3):49-52.

43. Гошовська АВ, Гошовський ВМ. Взаємозв'язок між процесами гормональної регуляції та морфологічними змінами плаценти для діагностики порушень плацентарного комплексу. Південноукраїнський медичний журнал. 2013;2:22-4.

44. Гошовська АВ, Гошовський ВМ. Гістологічна картина уповільненого дозрівання плаценти людини. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2016;1:54-6.

45. Гошовська АВ, Гошовський ВМ. Дозрівання плаценти людини, діагностика зрілості матково-плацентарної ділянки. Буковинський медичний вісник. 2014;18(2):214-6.

46. Гошовська АВ, Гошовський ВМ. Імуногістохімічне дослідження плацентарних гормонів та білків вагітності в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти в жінок з проявами гіперандрогенії. Клінічна та експериментальна патологія. 2015;14(2):73-6.

47. Гошовська АВ, Давиденко ІС, Гошовський ВМ. Особливості білків у клітинах хоріона та децидуальнозміненого ендометрія при гіперандрогнії (гістохімічне дослідження). Буковинський медичний вісник. 2015;19(2):52-4.

48. Гресько АС, Гарвасюк ОВ. Розподіл протеїнів ВАХ у клітинах Гофбауера плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних. Хист. 2016;18:355.

49. Гречко ДІ. Особливості стромально-паренхіматозних перебудов печінки плодів при плацентарній недостатності, зумовленій затримкою розвитку хоріальних ворсинок. Буковинський медичний вісник. 2013;17(3 Ч 2):8-11.

50. Давиденко ІС, Грицюк МІ, Давиденко ОМ. Методика кількісної оцінки результатів гістохімічної реакції з бромфеноловим синім для встановлення співвідношення між аміно- та карбоксильними групами в білках. Вісник морської медицини. 2017;4(77):141-8.

51. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Гарвасюк ОВ. Спосіб дослідження окислювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я (Реєстр. No№ 278/4/17). Київ, 2018. с. 256-7.

52. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Мироник ОВ, Лазарук ОВ, Гарвасюк ОВ, Попович АІ, та ін., винахідники; Вищий державний навчальний заклад

України «Буковинський державний медичний університет», патентовласник. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Патент України № 115329. 2017 Кві 10.

53. Давиденко ІС, Тюленєва ОА. Удосконалення класифікації хоріальних ворсинок плаценти, її обґрунтування методами інформаційного аналізу та практичне застосування, як досягнення науковців кафедри патоморфології Буковинського державного медичного університету. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2014;13(2):108-13.

54. Давиденко ІС. Оцінка сили впливу залізодефіцитної анемії вагітних на структурні елементи ворсин плаценти за методом Снедекора (однофакторний дисперсійний аналіз). Клінічна та експериментальна патологія. 2005;4(2):15-9.

55. Давиденко ІС, Тюленєва ОА, Закрутько ЛП. Морфологічне визначення гестаційного терміну хоріального дерева та матково-плацентарної ділянки посліду: метод. реком. Київ; 2016. 20 с.

56. Давидова ЮВ, Лиманська АЮ, Дзуліт МП, Огородник АО. Плацентарні синдроми в клініці екстрагенітальної патології з точки зору ендотеліальної дисфункції: сучасні уявлення та шляхи корекції. Здоров'є жінщини. 2015;5:83-6.

57. Данкович НО, Воробей-Вихівська ВМ. Фетоплацентарна недостатність та натуропатичні методи її лікування. Здоров'є жінщини. 2012;4:121-4.

58. Долгушина ВФ, Сюдюкова ЕГ. Особенности плацентарного апоптоза и клеточной пролиферации при преэклампсии. Акушерство и гинекология. 2015;2:12-9.

59. Дыкан ИН, Волик НК. Внутриплацентарная гемодинамика при осложненном течении беременности (по данным трехмерной энергетической доплерометрии). Журнал Національної академії медичних наук України. 2013;19(4):502-7.

60. Егорова ЕС. Основные принципы лечения анемии и тромбофилического состояния у беременных и родильниц. Акушерство, гинекология, репродукция. 2014;8(3):65-70.

61. Жданович АІ, Коломийченко ТВ, Яроцька ЮО. Процеси ангіогенезу і апоптозу у вагітних з високим ризиком прееклампсії та їх імунологічна обумовленість. Імунологія та алергологія. 2015;2:17-22.

62. Жук СІ, Пехньо ТВ, Бикова ОГ. Залізодефіцитна анемія вагітних. Здоровье женщины. 2014;8:40-3.

63. Заболотна АВ. Патоморфологічні особливості плацент у породілей з групи високого ризику розвитку плацентарної дисфункції. Здоровье женщины. 2015;9:85-7.

64. Запорожан ВМ, Анчева ІА, Микитенко ДО. Експресія гена HIF1A у породілей, що страждали на дисфункцію плаценти на тлі залізодефіцитної анемії протягом вагітності. Одеський медичний журнал. 2014;5:68-72.

65. Знаменська ТК, Бойчук ТМ, Годованець ЮД. Національний Проект «Нове життя. Нова якість охорони материнства та дитинства»: інновації наукового супроводу та медичної освіти. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2013;3(1):13-8.

66. Иванец ТЮ, Алексеева МЛ, Логинова НС, Колодько ВГ, Насонова ДМ, Хасьянова ЗШ. Плацентарный фактор роста и FMS-подобная тирозинкиназа-1 как маркеры преэклампсии в динамике беременности. Клиническая лабораторная диагностика. 2013;8:14-7.

67. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в ендотеліюцитах кровоносних судин базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна та експериментальна патологія. 2016;15(4):54-7.

68. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків у децидуальних клітинах плаценти при

поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Буковинський медичний вісник. 2017;21(1):54-7.

69. Каліновська ІВ. Ехографічні особливості розвитку ембріона у вагітних з плацентарною дисфункцією. Буковинський медичний вісник. 2015;19(4):75-7.

70. Кан НЕ, Климанцев ИВ, Дубова ЕА, Амирасланов ЭЮ. Плацентарная недостаточность у беременных с недифференцированной дисплазией соединительной ткани. Акушерство и гинекология. 2013;3:54-7.

71. Кисиличак ЮА, Попович АІ. Гістохімічна оцінка процесів обмеженого протеолізу в фібриноїді плаценти в місцях депозитів кальцію у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасних пологах. Хист. 2017;19:311.

72. Кондря ДО. Зміни гормонів трофобласту при невиношуванні вагітності. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2015;14(3):62-4.

73. Коноводова ЕН, Бурлев ВА, Тютюнник ВЛ. Эффективность терапии латентного дефицита железа у беременных. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2011;10(5):26–30.

74. Коноводова ЕН, Бурлев ВА. Железодефицитные состояния у беременных и родильниц. Акушерство и гинекология. 2012;1:137-42.

75. Концепція державної програми «Репродуктивне здоров'я нації на 2006-2015 рр.. Ваше здоров'я; 2005. 7-10.

76. Корінець ЯМ, Прокопчук НМ. Аналіз ефективності пренатальної діагностики у сім'ях з репродуктивними втратами в анамнезі. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2014;2:127-31.

77. Костюк ВМ. Вплив залізодефіцитної анемії вагітних на синтетичну функцію та активність процесів апоптозу в периферійному цитотрофобласті плаценти. Архів клінічної медицини. 2013;1:45-7.

78. Костюк ВМ. Периферичний цитотрофобласт плаценти та його роль у перебігу вагітності. Архів клінічної медицини. 2013;1:13-6.

79. Котова ГС. Железодефицитная анемия при беременности. Семейный доктор. 2013;1:45-51.

80. Кравченко ОВ, Булик ТС. Сучасні погляди на роль екстраембріональних структур у розвитку ембріона. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2005;4(3):72-6.

81. Кудинова ЕВ. Раннее прогнозирование и коррекция плацентарной недостаточности при невынашивании беременности. Здоровье женщины. 2005;1:19-21.

82. Кузьмин ВН, Мурриева ГА. Значение полиморфизма и экспрессии генов цитокинов в прогнозировании риска преждевременных родов. Лечащий врач. 2013;11:26.

83. Кулиева ФС. Допплерометрическая и морфогистохимическая характеристика фетоплацентарной системы у беременных с анемией. Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2013;8(2):36-40.

84. Курицина СА. Морфологические особенности фетоплацентарного комплекса при аномально расположенной плаценте. Здоровье женщины. 2013;5:97-9.

85. Куріцина СА. Діагностика, профілактика та прогнозування перинатальної патології при аномаліях плацентації (ретрохоріальні гематоми та аномалії розташування плаценти). Здоровье женщины. 2017;3:60-2.

86. Лісовська ДВ, Кополовець ОІ, Попович АІ. Гістохімічна оцінка процесів обмеженого протеолізу в фібриноїді в місцях депозитів кальцію у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасних пологах. Хист. 2015;17:258.

87. Ломова НА, Кан НЕ, Тютюнник ВЛ, Коган ЕА. Оценка факторов врожденного иммунитета в тканях последа при плацентарной недостаточности. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2013;12(5):41-5.

88. Маєвський ОЄ. Інволютивно-дегенеративні зміни посліду при фізіологічному старінні плаценти та фетоплацентарній недостатності. Biomedical and biosocial anthropology. 2014;23:254-8.

89. Макаров ОВ, Волкова ЕВ, Лысюк ЕЮ, Копылова ЮВ, Джохадзе ЛС. Роль ангиогенных факторов роста в патогенезе преэклампсии и плацентарной недостаточности. Акушерство и гинекология. 2014;12:64-70.

90. Марковский ВД, Куприянова ЛС, Клементьев ВВ. Морфологические особенности строения внутренних органов плодов от матерей, беременность которых протекала на фоне первичной плацентарной дисфункции. Медицина сьогодні і завтра. 2014;4:12-7.

91. Мельник ЮМ, Жук СІ, Пехньо НВ. Значення сонографічної оцінки кровотоку в венозній протоці у діагностиці плацентарної дисфункції та прогнозуванні перебігу пологів. Здоровье женщины. 2015;7:54-7.

92. Мельник ЮМ, Шляхтіна АО. Ранні предиктори плацентарної дисфункції. Здоровье женщины. 2016;8:25-8.

93. Милованов АП. Патология системы мать-плацента-плод: руководство для врачей. Москва: Медицина; 1999. 448 с.

94. Міщенко ВП, Руденко ІВ, Волченко ОВ, Лісковський СВ. Сучасні напрямки прогнозування та діагностики плацентарної дисфункції. Таврический медико-биологический вестник. 2012;2(Ч 2):150-3.

95. Мубаракшина ОА, Сомова МН, Любавская СС. Фармакологическая коррекция дефицита железа и магния в период беременности. Акушерство и гинекология. 2014;4:75-80.

96. Нагайцева ЕА, Серова НС. Возможности ультразвукового исследования в оценке формирования хронической плацентарной недостаточности. Вестник рентгенологии и радиологии. 2013;2:45-9.

97. Наурузова ЗМ, Новикова ВА, Корчагина ЕЕ, Федорович ОК. Влияние терапии хронической плацентарной недостаточности при развитии дискоординации родовой деятельности на состояние плода и новорожденного. Здоровье женщины. 2011;7:165-6.

98. Нестерова ЭА, Путилова НВ. Роль родительно-плодовой тромбофилии в формировании тяжелых форм плацентарной недостаточности. Акушерство и гинекология. 2014;12:5-9.

99. Никитин ЕН, Долгова ОН, Шишкина АА, Юшкова МВ, Манаков ВА. Железодефицитные анемии в разные периоды беременности. Практическая медицина. 2011;50:93.
100. Новикова СВ, Савельев СВ. К вопросу о структурных основах, определяющих функциональные проявления плацентарной недостаточности. Русский Медицинский Журнал. 2014;22(14):1030–33.
101. Павлишин ГА, Сарапук ІМ, Сарапук ГС. Особливості апоптозу при різних патологічних процесах. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2013;3(4):118-22.
102. Палига ІС. Профілактика невдалих спроб застосування допоміжних репродуктивних технологій. Здоровье женщины. 2017;3:110-2.
103. Палига ХВ, Попович АІ, Кизима ІМ. Гістохімічна оцінка процесів обмеженого протеолізу в інтервільозному фібриноїді в місцях депозитів кальцію у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасних пологах. Хист. 2017;19:313.
104. Пересада ОА, Богуш ЛС, Котова ГС. Железодефицитная анемия при беременности: метод. реком. Минск: ДокторДизайн; 2014. 31 с.
105. Попович АІ, Давиденко ІС, Лазарук ОВ. Кількісна оцінка зв'язку залізодефіцитної анемії вагітних з морфологічними варіантами депозитів кальцію в ділянці хоріального дерева плаценти методами кореляції (асоціації) між якісними показниками. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2017;16(1):76-80.
106. Попович АІ, Давиденко ІС. Розподіл морфологічних варіантів депозитів кальцію у плаценті за умов залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2016;15(3):84-8.
107. Протопопова ТА. Железодефицитная анемия и беременность. Русский Медицинский Журнал. 2012;17:862–7.
108. Савельева ГМ, редактор. Справочник по акушерству, гинекологии и перинатологии. Москва: Медицинское информационное агенство; 2006, с. 118-53.

109. Семеняк АВ, Коляндрецька СВ, Андрієць ОА. Профілактика ускладнень дисфункції плаценти. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2016;6(2):84-7.

110. Стойка ОЯ, Лутчак П, Попович АІ. Гістохімічна оцінка процесів обмеженого протеолізу в інтервільозному фібриноїді в місцях депозитів кальцію у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасних пологах. Хист. 2015;17:262.

111. Стуклов НИ, Леваков СА. Лабораторные признаки влияния хронического заболевания на развитие анемии при патологии женской репродуктивной системы. Клиническая лабораторная диагностика. 2011;7:27-9.

112. Сумская ГФ, Фомичева СВ. Железодефицитные состояния у беременных. Здоровье женщины. 2012;5:32-6.

113. Сухих ГТ, Красный АМ, Кан НЕ, Майорова ТД, Тютюнник ВЛ. Апоптоз и экспрессия генов ферментов антиоксидантной защиты в плаценте при преэклампсии. Акушерство и гинекология. 2015;3:11-5.

114. Таюпова ИМ. Медико-социальные аспекты железодефицитной анемии во время беременности. Вестник Башкирского университета. 2015;20(3):1100-4.

115. Тезиков ЮВ, Липатов ИС. Прогнозирование и диагностика тяжёлых форм плацентарной недостаточности. Акушерство и гинекология. 2012;1 35–42.

116. Тюленева ОА, Давиденко ІС, Завалецький ВМ. Методологічний аспект застосування імуногістохімічної методики на фактор von Willebrandt на матеріалі матково-плацентарної ділянки та міометрію вагітних. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2015;6(4):95-100.

117. Тюленева ОА, Давиденко ІС. Порухення дозрівання хоріального дерева при екстрахоріальних плацентах. Клінічна та експериментальна патологія. 2011;10(1):164-8.

118. Уніфікований клінічний протокол первинної та вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги "Залізодефіцитна анемія". Наказ МОЗ

України від 2 листопада 2015 р. № 709. Медицинские аспекты здоровья женщины. 2015;10:19-41.

119. Фединчук ГВ. Оцінка гемодинамічних змін у матково-плацентарно-плодовому комплексі і їх вплив на розвиток плода у вагітних із прееклампсією. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: Медицина. 2013;3:172-5.

120. Филиппов ОС. Плацентарная недостаточность. Москва: МЕДпресс-информ; 2009. 160 с.

121. Франк ГА, Мальков ПГ, редакторы. Иммуногистохимические методы: руководство. Москва; 2011. 224 с.

122. Цирзерлинг ВА, Мельникова ВФ. Перинатальные инфекции. Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинко-морфологических сопоставлений: руководство для врачей. Санкт-Петербург: Элби-СПб; 2002. 352 с.

123. Чернуха ГЕ, Думановская МР, Бурменская ОВ, Шубина НС. Экспрессия генов, регулирующих апоптоз, при разных типах гиперплазии эндометрия и эндометриоидной карциноме. Акушерство и гинекология. 2013;1:63-9.

124. Черняк ММ, Корчинська ОО. Сучасний стан проблеми плацентарної дисфункції у жінок з обтяженим акушерським анамнезом. Проблеми клінічної педіатрії. 2015;14:42-8.

125. Чонко ОЮ. Перинатальні аспекти в жінок із передчасним відшаруванням плаценти в анамнезі. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: Медицина. 2016;1:121-4.

126. Шендерюк ОП, Давиденко ІС. Деякі гістохімічні властивості білків трофобласта та ендотелію хоріальних ворсинок плаценти при запаленні посліду. Буковинський медичний вісник. 2012;16(4):181-4.

127. Шендерюк ОП, Давиденко ІС. Концентрація плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти при запаленні посліду (імуногістохімічне дослідження). Клінічна та експериментальна патологія. 2012;11(3 Ч 2):139-41.

128. Шендерюк ОП. Ферментна активність та концентрація плацентарної лужної фосфатази у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти при запаленні посліду (гістохімічне та імуногістохімічне дослідження). Буковинський медичний вісник. 2013;17(1):144-6.
129. Яковлева ЕА, Демина ОВ, Бабаджанян ЕН, Яковенко ЕА. Плацентарная дисфункция. Міжнародний медичний журнал. 2017;23(2):47-51.
130. Якунина НА, Докуева РС-Э, Зайдиева ЗС. Дефицит железа у беременных, пути профилактики. Медицинский совет. 2014;7:48-53.
131. Яремчук ТП. Передчасне дозрівання плаценти: стан проблеми та раціональна акушерська тактика. Жіночий лікар. 2008;6:46.
132. Adil SAK, Rumana N. A study of histopathological changes of placenta in severe anaemia. Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences. 2012;1(4):616–23. doi: <https://doi.org/10.14260/jemds/97>
133. Aiken, CE, Ozanne, SE. Transgenerational developmental programming. Hum Reprod Update. 2014;20(1):63–75. doi:10.1093/humupd/dmt043
134. Akbarzadeh-Jahromi M, Sari Aslani F, Parvari S. Placental mesenchymal dysplasia complicated by hydrops fetalis and fetal death: a case report. Arch Iran Med. 2013;16(9):551-4. doi:10.13169/AIM.0013
135. Akhlaq M, Nagi AH. Placental morphology in preeclampsia and eclampsia and the likely role of NK cells. Indian J Pathol Microbiol. 2012;55(1):17-21. doi: 10.4103/0377-4929.94848
136. Amel IE. Evaluation of anaemia in booked antenatal mothers during the last trimester. J Clin Diagn Res. 2013;7(11):2487–90. doi: 10.7860/JCDR/2013/6370.3586
137. Andraweera PH, Bobek G, Bowen C, Burton GJ, Correa Frigerio P, Chaparro A, et al. IFPA meeting 2015 workshop report II: mechanistic role of the placenta in fetal programming; biomarkers of placental function and complications of pregnancy. Placenta. 2016;48(Suppl 1):7-11. doi:10.1016/j.placenta.2015.12.012
138. Avni R, Neeman M, Garbow JR. Functional MRI of the placenta - From rodents to humans. Placenta. 2015;36(6):615-22. doi: 10.1016/j.placenta.2015.04.003

139. Barroso F, Allard S, Kahan BC, Connolly C, Smethurst H, Choo L, et al. Prevalence of maternal anaemia and its predictors: a multi-centre study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;159(1):99-105. doi:10.1016/j.ejogrb.2011.07.041
140. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Requejo JH, et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ.* 2010;88(1):31-8. doi:10.2471/BLT.08.062554
141. Behnia F, Taylor BD, Woodson M, Kacerovsky M, Hawkins H, Fortunato SJ, et al. Chorioamniotic membrane senescence: a signal for parturition? *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(3):359. doi:10.1016/j.ajog.2015.05.041
142. Bencaiova G, Burkhardt T, Breymann C. Anemia-prevalence and risk factors in pregnancy. *Eur J Intern Med.* 2012;23(6):529-33. doi:10.1016/j.ejim.2012.04.008
143. Benirschke K. Pathology of the human placenta / K. Benirschke, G. J. Burton, R.N. Baergen // 6th ed. – 2012. – New York: Springer. – 941 p.
144. Benton SJ, McCowan LM, Heazell AE, Gynspan D, Hutcheon JA, Senger C, et al. Placental growth factor as a marker of fetal growth restriction caused by placental dysfunction. *Placenta.* 2016;42:1-8. doi: 10.1016/j.placenta.2016.03.010.
145. Benyuk VO, Kalenskaya OV, Goncharenko VM, Strokan AM, Bubnov RV. Immunohistological chemical research of the apoptosis and endometrium APUD-system state interreaction in normal and pathological conditions. *Здоровье женщины.* 2016;1:63-6.
146. Best CM, Pressman EK, Cao C, Cooper E, Guillet R, Yost OL, et al. Maternal iron status during pregnancy compared with neonatal iron status better predicts placental iron transporter expression in humans. *FASEB J.* 2016;30(10):3541-50. doi: 10.1096/fj.201600069R.
147. Beucher G, Grossetti E, Simonet T, Leporrier M, Dreyfus M. Iron deficiency anemia and pregnancy. Prevention and treatment. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2011;40(3):185-200. doi:10.1016/j.jgyn.2011.01.004
148. Biron-Shental T, Sukenik-Halevy R, Sharon Y, Goldberg-Bittman L, Kidron D, et al. Short telomeres may play a role in placental dysfunction in

preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(4):381. doi: 10.1016/j.ajog.2010.01.036

149. Biswas S, Meyur R, Adhikari A, Bose K, Kundu P. Placental changes associated with maternal anaemia. *Eur J Anat.* 2014;18(3):165-9.

150. Bligh LN, Greer RM, Kumar S. The relationship between maternal placental growth factor levels and intrapartum fetal compromise. *Placenta.* 2016;48:63-7. doi:10.1016/j.placenta.2016.10.007

151. Boelig RC, Berghella V. Current options for mechanical prevention of preterm birth. *Semin Perinatol.* 2017;41(8):452-60. doi:10.1053/j.semperi.2017.08.003.

152. Bredeson S, Papaconstantinou J, Deford JH, Kechichian T, Syed TA, Saade GR, et al. HMGB1 promotes a p38MAPK associated non-infectious inflammatory response pathway in human fetal membranes. *PLoS One.* 2014;9(12):113799. doi:10.1371/journal.pone.0113799

153. Brownfoot FC, Hastie R, Hannan NJ, Cannon P, Tuohey L, Parry LJ, et al. Metformin as a prevention and treatment for preeclampsia: effects on soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin secretion and endothelial dysfunction. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(3):356. doi:10.1016/j.ajog.2015.12.019

154. Burton GJ, Fowden AL, Thornburg KL. Placental origins of chronic disease. *Physiol Rev.* 2016;96(4):1509–65. doi: 10.1152/physrev.00029.2015

155. Burton GJ, Fowden AL. The placenta: a multifaceted, transient organ. *Philos Trans R Soc Lond Ser BBiol Sci* [Internet]. 2015 [cited 2017Dec10];370(1663):20140066. Available from: <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/370/1663/20140066> doi: 10.1098/rstb.2014.0066

156. Burton GJ, Jauniaux E, Murray AJ. Oxygen and placental development; parallels and differences with tumour biology. *Placenta.* 2017;56:14-8. doi:10.1016/j.placenta.2017.01.130

157. Burton GJ, Jauniaux E. The cytotrophoblastic shell and complications of pregnancy. *Placenta.* 2017;60:134-9. doi:10.1016/j.placenta.2017.06.007

158. Buzyan LO. Mild anemia as a protective factor against pregnancy loss. *Int J Risk Saf Med*. 2015;27(Suppl1):7-8.doi:10.3233/JRS-150668
159. Cao C, Pressman EK, Cooper EM, Guillet R, Westerman M, O'Brien KO. Placental heme receptor LRP1 correlates with the heme exporter FLVCR1 and neonatal iron status. *Reproduction*. 2014;148(3):295-302. doi:10.1530/REP-14-0053
160. Capuani S, Guerreri M, Antonelli A, Bernardo S, Porpora MG, Giancotti A, et al. Diffusion and perfusion quantified by Magnetic Resonance Imaging are markers of human placenta development in normal pregnancy. *Placenta*. 2017;58:33-9. doi: 10.1016/j.placenta.2017.08.003
161. Cerami C. Iron Nutriture of the Fetus, Neonate, Infant, and Child. *Ann Nutr Metab*. 2017;71(3):8-14.doi:10.1159/000481447.
162. Chaiworapongsa T, Romero R, Erez O, Tarca AL, Conde-Agudelo A, Chaemsaitong P, et al. The prediction of fetal death with a simple maternal blood test at 20-24 weeks: a role for angiogenic index-1 (PlGF/sVEGFR-1 ratio). *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(6):682. doi: 10.1016/j.ajog.2017.10.001
163. Chaiworapongsa T, Romero R, Korzeniewski SJ, Chaemsaitong P, Hernandez-Andrade E, Segars JH,et al. Pravastatin to prevent recurrent fetal death in massive perivillous fibrin deposition of the placenta (MPFD). *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29(6):855–62.doi:10.3109/14767058.2015.1022864
164. Chaiworapongsa T, Romero R, Whitten AE, Korzeniewski SJ, Chaemsaitong P, Hernandez-Andrade E,et al. The use of angiogenic biomarkers in maternal blood to identify which SGA fetuses will require a preterm delivery and mothers who will develop pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29(8):1214–28. doi:10.3109/14767058.2015.1048431
165. Chaiworapongsa T, RomeroR, Savasan ZA, Kusanovic JP, Ogge G, Soto E,et al. Maternal plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors are of prognostic value in patients presenting to the obstetrical triage area with the suspicion of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011;24(10):1187–207.doi:10.3109/14767058.2011.589932

166. Chappell LC, Duckworth S, Seed PT, Griffin M, Myers J, Mackillop L, et al. Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: a prospective multicenter study. *Circulation*. 2013;128(19):2121–31.doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003215
167. Cheong JN, Wlodek ME, Moritz KM, Cuffe JS. Programming of maternal and offspring disease: impact of growth restriction, fetal sex and transmission across generations. *J Physiol*. 2016; 594(17):4727-40.doi:10.1113/jp271745.
168. Chistyakova G, Gazieva I, Remizova I, Ustyantseva L, Lyapunov V, Bychkova S. Risk factors vary early preterm birth and perinatal complications after assisted reproductive technology. *Gynecol Endocrinol*. 2016;32(2):56-61.doi:10.1080/09513590.2016.1232543.
169. Christoph P, Schuller C, Studer H, Irion O, De Tejada BM, Surbek D. Intravenous iron treatment in pregnancy: comparison of high-dose ferric carboxymaltose vs. iron sucrose. *J Perinat Med*.2012;40(5):469-74.doi:10.1515/jpm-2011-0231
170. Coviello EM, Grantz KL, Huang CC, Kelly TE, Landy HJ. Risk factors for retained placenta. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213(6):864. doi:10.1016/j.ajog.2015.07.039.
171. Crovetto F, Figueras F, Triunfo S, Crispi F, Rodriguez-Sureda V, Peguero A, et al. Added value of angiogenic factors for the prediction of early and late preeclampsia in the first trimester of pregnancy. *Fetal Diagn Ther*.2014;35(4):258–66.doi:10.1159/000358302
172. Cuffe JSM, Holland O, Salomon C, Rice GE, Perkins AV. Review: Placental derived biomarkers of pregnancy disorders. *Placenta*.2017;54:104–10.doi: 10.1016/j.placenta.2017.01.119
173. Daru J, Allotey J, Peña-Rosas JP, Khan KS. Serum ferritin thresholds for the diagnosis of iron deficiency in pregnancy: a systematic review. *Transfus Med*. 2017;27(3):167-74. doi: 10.1111/tme.12408.

174. David AL, Jauniaux E. Ultrasound and endocrinological markers of first trimester placentation and subsequent fetal size. *Placenta*. 2016;40:29-33. doi:10.1016/j.placenta.2016.02.005

175. de Angelis P, Miller RK, Darrah TH, Katzman PJ, Pressman EK, Kent TR, et al. Elemental content of the placenta: A comparison between two high-risk obstetrical populations, adult women carrying multiples and adolescents carrying singletons. *Environ Res*. 2017;158:553-65. doi:10.1016/j.envres.2017.07.008.

176. De Paepe ME, Shapiro S, Young LE, Luks FI. Placental weight, birth weight and fetal: placental weight ratio in dichorionic and monochorionic twin gestations in function of gestational age, cord insertion type and placental partition. *Placenta*. 2015;36(2):213-20. doi:10.1016/j.placenta.2014.11.009.

177. Derricott H, Jones RL, Heazell AE. Investigating the association of villitis of unknown etiology with stillbirth and fetal growth restriction - a systematic review. *Placenta*. 2013;34(10):856–62. doi:10.1016/j.placenta.2013.07.003

178. Drewlo S, Armant DR. Quo vadis, trophoblast? Exploring the new ways of an old cell lineage. *Placenta*. 2017;60(1):27-31. doi:10.1016/j.placenta.2017.04.021.

179. Drobinskaia AN, Nadeeva AP, Zhukova VA, Pasman NM, Karpov MA, Teliatnikova NV. Placental morphology in inherited thrombophilia. *Arkh Patol*. 2014;76(3):33-6.

180. D'Silva A, Fyfe R, Hyett J. First trimester prediction and prevention of adverse pregnancy outcomes related to poor placentation. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2017;29(6):367-74.

181. Ernst LM, Rand CM, Bao R, Andrade J, Linn RL, Minturn L, et al. Stillbirth: genome-wide copy number variation profiling in archived placental umbilical cord samples with pathologic and clinical correlation. *Placenta*. 2015;36(8):783–9. doi:10.1016/j.placenta.2015.04.010

182. Etheredge AJ, Premji Z, Gunaratna NS, Abioye AI, Aboud S, Duggan C, et al. Iron Supplementation in Iron-Replete and Nonanemic Pregnant Women in

Tanzania A Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr.* 2015;169(10):947-55. doi:10.1001/jamapediatrics.2015.

183. Fajersztajn L, Veras MM. Hypoxia: From Placental Development to Fetal Programming. *Birth Defects Res.* 2017;109(17):1377-85. doi:10.1002/bdr2.1142.

184. Ferreira T, Rasband W. ImageJ. UserGuide. ImageJ/Fiji 1.46[Internet]. New York: National Institute of Health; 2012[cited 2017 Dec 22]. 198 p. Available from: <https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf>

185. Gaillard R, Eilers PH, Yassine S, Hofman A, Steegers EA, Jaddoe VW. Risk factors and consequences of maternal anaemia and elevated haemoglobin levels during pregnancy: a population-based prospective cohort study. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2014;28(3):213-26. doi: 10.1111/ppe.12112

186. Garvasiuk O, Davydenko I. Quantitative assessment of the results of vimentin immunohistochemical examination in fibroblasts and endotheliocytes of the placental villi in the aspect of preterm maturation of the chorionic tree and iron deficiency anemia of gravidas. *Georgian Medical News.* 2017;273:95-9.

187. Ghaghada KB, Starosolski ZA, Bhayana S, Stupin I, Patel CV, Bhavane RC, et al. Pre-clinical evaluation of a nanoparticle-based blood-pool contrast agent for MR imaging of the placenta. *Placenta.* 2017;57:60-70. doi:10.1016/j.placenta.2017.06.008

188. Giardi G. Placental insufficiency and the fetal brain. In: Meeting of the International-Federation-of-Placenta-Associations (IFPA). 2017 Aug 30-Sep 02; Manchester. *Placenta.* 2017;57:230. doi: 10.1016/j.placenta.2017.07.033.

189. Gomez-Lopez N, Romero R, Plazyo O, Schwenkel G, Garcia-Flores V, Unkel R, et al. Preterm labor in the absence of acute histologic chorioamnionitis is characterized by cellular senescence of the chorioamniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(5):592. doi:10.1016/j.ajog.2017.08.008.

190. Greer L, Ziadie M, Casey B, Rogers BB, McIntire D, Leveno K. An immunologic basis for placental insufficiency in fetal growth restriction. *Am J Perinatol.* 2012;29(7):533–8. doi:10.1055/s-0032-1310525

191. Ha S, Sundaram R, Buck Louis GM, Nobles C, Seeni I, Sherman S, et al. Ambient air pollution and the risk of pregnancy loss: a prospective cohort study. *Fertil Steril*. 2018;109(1):148-53. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.09.037
192. Hammer Ø. PAST: Paleontological Statistics. Version 3.19. Reference Manual. Oslo: Natural History Museum University of Oslo; 2018. 259 p.
193. Nakamura M, Hamada S, Sekizawa A, Okai T. Is maternal anemia associated with small placental volume in the first trimester? *Arch Gynecol Obstet*. 2014;289(6):1207-9. doi:10.1007/s00404-014-3154-3
194. Hayward CE, Lean S, Sibley CP, Jones RL, Wareing M, Greenwood SL, et al. Placental Adaptation: What Can We Learn from Birthweight:Placental Weight Ratio? *Front Physiol*. 2016;7:28. doi:10.3389/fphys.2016.00028.
195. Heazell AE, Worton SA, Higgins LE, Ingram E, Johnstone ED, Jones RL, et al. IFPA Gabor Than Award Lecture: Recognition of placental failure is key to saving babies' lives. *Placenta*. 2015;36(Suppl 1):20-8. doi:10.1016/j.placenta.2014.12.017
196. Hemminki E, Nwaru BI, Salomé G, Parkkali S, Abacassamo F, Augusto O, et al. Is selective prenatal iron prophylaxis better than routine prophylaxis: final results of a trial (PROFEG) in Maputo, Mozambique. *BMJ Open*. 2016;6(6):011280.doi:10.1136/bmjopen-2016-011280.
197. Hodgins S, Tielsch J, Rankin K, Robinson A, Kearns A, Caglia J. A New Look at Care in Pregnancy: Simple, Effective Interventions for Neglected Populations. *PLoS One*. 2016;11(8):0160562. doi:10.1371/journal.pone.0160562.
198. Hunt K, Kennedy SH, Vatish M. Definitions and reporting of placental insufficiency in biomedical journals: a review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016;205:146-9.doi:10.1016/j.ejogrb.2016.08.029.
199. Illsley NP, Caniggia I, Zamudio S. Placental metabolic reprogramming: do changes in the mix of energy-generating substrates modulate fetal growth? *Int J Dev Biol*. 2010;54:409–19. doi: 10.1387/ijdb.082798ni

200. Ishikawa S, Morikawa M, Umazume T, Yamada T, Kanno H, Takakuwa E, et al. Anemia in a neonate with placental mesenchymal dysplasia. *Clin Case Rep.* 2016;4(5):463-5. doi:10.1002/ccr3.543
201. Ishikawa S, Morikawa M, Yamada T, Akaishi R, Kaneuchi M, Minakami H. Prospective risk of stillbirth in women with placental mesenchymal dysplasia. *J Obstet Gynaecol Res.* 2015;41(10):1562-8. doi:10.1111/jog.12757
202. Keche HA, Keche AS. Morphometric differentiation between placenta in PIH and normal pregnancy. *Int J Med SciPublic Health.* 2015;4:250–5. doi:https://doi.org/10.5455/ijmsph.2015.0711201457
203. Kim CJ, Romero R, Chaemsathong P, Kim JS. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(4 Suppl):53–69.doi:10.1016/j.ajog.2015.08.041
204. Kiran N, Zubair A, Malik TM, Ayyub M, Khan IM. Placental morphology at different maternal hemoglobin levels: a histopathological study. *Pak Armed Forces Med J.* 2015;65(2):189-93.
205. Kochhar PK, Kaundal A, Ghosh P. Intravenous iron sucrose versus oral iron in treatment of iron deficiency anemia in pregnancy: a randomized clinical trial. *J Obstet Gynaecol Res.*2013;39(2):504-10.doi:10.1111/j.1447-0756.2012.01982.x
206. Koga H, Makimura M, Tanaka H, Sumioki H. Placental Mesenchymal Dysplasia and Fetal Hematologic Disorder. *J Pediatr.* 2014;36(6):389-91.doi:10.1097/MPH.0b013e31829d4542
207. Korzeniewski SJ, Romero R, Chaiworapongsa T, Chaemsathong P, Kim CJ, Kim YM, et al. Maternal plasma angiogenic index-1 (placental growth factor/soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) is a biomarker for the burden of placental lesions consistent with uteroplacental underperfusion: a longitudinal case-cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(5):629.doi:10.1016/j.ajog.2015.11.015
208. Koura GK, Ouedraogo S, Le Port A, Watier L, Cottrell G, Guerra J, et al. Anaemia during pregnancy: impact on birth outcome and infant haemoglobin level

during the first 18 months of life. *Trop Med Int Health*. 2012;17(3):283-91. doi: 10.1111/j.1365-3156.2011.02932.x

209. Kumar KJ, Asha N, Murthy DS, Sujatha M, Manjunath V. Maternal anemia in various trimesters and its effect on newborn weight and maturity: an observational study. *Int J Prev Med*. 2013;4(2):193-9.

210. Lamm KB, Jones H, Muglia L. Loss of inverted formin-2 (inf2), a novel model of placental insufficiency, dysregulates placental vascularization and fetal growth, and causes maternal hypertension in late gestation. In: Meeting of the International-Federation-of-Placenta-Associations (IFPA). 2017 Aug 30-Sep 02; Manchester. *Placenta*. 2017;57:249. doi: 10.1016/j.placenta.2017.07.092.

211. Lelic M, Bogdanovic G, Ramic S, Brkicevic E. Influence of maternal anemia during pregnancy on placenta and newborns. *Med Arh*. 2014;68(3):184-7. doi: 10.5455/medarh.2014.68.184-187

212. Li H, Li L, Tang X, Yang F, Yang KX. Placental mesenchymal dysplasia: a case of a normal-appearing fetus with intrauterine growth restriction. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(8):5302-7.

213. Li X, Zhang M, Pan X, Xu Z, Sun M. "Three Hits" Hypothesis for Developmental Origins of Health and Diseases in View of Cardiovascular Abnormalities. *Birth Defects Res*. 2017;109(10):744-57. doi:10.1002/bdr2.1037.

214. Londero AP, Bertozzi S, Visentin S, Fruscalzo A, Driul L, Marchesoni D. High placental index and poor pregnancy outcomes: a retrospective study of 18 386 pregnancies. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29(7):666-9. doi:10.3109/09513590.2013.798273

215. Londero AP, Orsaria M, Marzinotto S, Grassi T, Fruscalzo A, Calcagno A, et al. Placental aging and oxidation damage in a tissue micro-array model: an immunohistochemistry study. *Histochem Cell Biol*. 2016;146(2):191-204. doi:10.1007/s00418-016-1435-6

216. Longtine MS, Nelson DM. Placental dysfunction and fetal programming: the importance of placental size, shape, histopathology, and molecular composition. *Semin Reprod Med*. 2011;29(3):187-96. doi: 10.1055/s-0031-1275515

217. Lucenko MT, Andrievskaya IA, Dolzhikova IV. Energy Metabolism in the Placenta and the Role of Disturbances in the Development of Placental Insufficiency at an Exacerbation of Cytomegalovirus Infection. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2016;71(3):177-82.

218. Maiti K, Sultana Z, Aitken RJ, Morris J, Park F, Andrew B, et al. Evidence that fetal death is associated with placental aging. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(4):441. doi:10.1016/j.ajog.2017.06.015

219. Makarov OV, Volkova EV, Kopylova YuV, Lysyuk EYu, Kibardin AV, Kibarding AV, assignee. Proteinsintez Stock Co (PROT-Non-standard). Method for prediction of preeclampsia in pregnant women suffering from placental insufficiency. United States patent RU2545760-C2. 2015 Apr 10.

220. Malik A, Sundaram S, Srinivasan B, Saishalini CN, Pavithra V. A Rare Mimicker in the Placenta. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(6):101-2. doi:10.7860/JCDR/2016/17420.7958.

221. Mandò C, Tabano S, Colapietro P, Pileri P, Colleoni F, Avagliano L, et al. Transferrin receptor gene and protein expression and localization in human IUGR and normal term placentas. *Placenta*. 2011;32:44–50. doi:10.1016/j.placenta.2010.10.009

222. Martin LF, Moço NP, de Lima MD, Polettini J, Miot HA, Corrêa CR, et al. Histologic chorioamnionitis does not modulate the oxidative stress and antioxidant status in pregnancies complicated by spontaneous preterm delivery. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2017;17(1):376. doi:10.1186/s12884-017-1549-4.

223. McAleavey SA, Parker KJ, Ormachea J, Wood RW, Stodgell CJ, Katzman PJ, et al. Shear Wave Elastography in the Living, Perfused, Post-Delivery Placenta. *Ultrasound Med Biol*. 2016;42(6):1282-8. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2016.01.009

224. Menon R, Bonney EA, Condon J, Mesiano S, Taylor RN. Novel concepts on pregnancy clocks and alarms: redundancy and synergy in human parturition. *Hum Reprod Update*. 2016;22(5):535-60. doi: 10.1093/humupd/dmw022.

225. Menon R, Mesiano S, Taylor RN. Programmed Fetal Membrane Senescence and exosome-Mediated Signaling: A Mechanism Associated with Timing of Human Parturition. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:196. doi:10.3389/fendo.2017.00196
226. Menon R. Human fetal membranes at term: Dead tissue or signalers of parturition? *Placenta*. 2016;44:1-5. doi:10.1016/j.placenta.2016.05.013
227. Miller JL. Iron deficiency anemia: a common and curable disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(7):011866.doi: 10.1101/cshperspect.a011866
228. Mondal GC, Baske A, Biswas S. Morphological Changes of Placenta Associated with Maternal Anaemia. *Int J Life Sci Scienti Res*. 2017;3(5):1400-7.
229. Mourier E, Tarrade A, Duan J, Richard C, Bertholdt C, Beaumont M, et al. Non-invasive evaluation of placental blood flow: lessons from animal models. *Reproduction*. 2017;153(3):85-96. doi:10.1530/REP-16-0428
230. Murray AJ. Oxygen delivery and fetal-placental growth: beyond a question of supply and demand. *Placenta*[Internet]. 2012[cited 2017 Dec 12];33(2):e16-22. Available from:[http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004\(12\)00218-4/fulltext](http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004(12)00218-4/fulltext) doi:10.1016/j.placenta.2012.06.006
231. Mwangi MN, Prentice AM, Verhoef H. Safety and benefits of antenatal oral iron supplementation in low-income countries: a review. *Br J Haematol*. 2017;177(6):884-95.doi: 10.1111/bjh.14584.
232. NijkampJW, SebireNJ, BoumanK, KortewegFJ, ErwichJJHM, GordijnSJ. Perinatal death investigations: What is current practice? *Semin Fetal Neonatal Med*. 2017;22(3):167-75.doi:10.1016/j.siny.2017.02.005.
233. Ning A, Vladutiu CJ, Dotters-Katz SK, Goodnight WH, Manuck TA. Gestational age at initiation of 17-alpha hydroxy progesterone caproate and recurrent preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(3):371. doi:10.1016/j.ajog.2017.05.022.
234. Nishimoto M, Katano M, Yamagishi T, Hishida T, Kamon M, Suzuki A, et al. In Vivo Function and Evolution of the Eutherian-Specific Pluripotency Marker UTF1. *PLoS One*. 2013;8(7):68119.doi:10.1371/journal.pone.0068119.

235. Nkwabong E, Tiomela Goula G. Placenta abruption surface and perinatal outcome. *Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(12):1456–9. doi:10.1080/14767058.2016.1219988
236. Novielli C, Mandò C, Tabano S, Anelli GM, Fontana L, Antonazzo P, et al. Mitochondrial DNA content and methylation in fetal cord blood of pregnancies with placental insufficiency. *Placenta.* 2017;55:63-70. doi: 10.1016/j.placenta.2017.05.008
237. Okun ML, Schetter CD, Glynn LM. Poor Sleep Quality is Associated with Preterm Birth. *Sleep.* 2011;34(11):1493-8. doi:10.5665/sleep.1384
238. Peña-Rosas JP, De-Regil LM, Gomez Malave H, Flores-Urrutia MC, Dowswell T. Intermittent oral iron supplementation during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;(10):CD009997. doi: 10.1002/14651858.CD009997.
239. Petrochenkov H, Garvasiuk O. Immunohistochemical concentration of human chorionic gonadotropin in the placenta's trophoblast cell with early maturation of placental villous tree considering the iron-deficiency anemia of pregnant. В.: Український науково-медичний молодіжний журнал; 2017, с. 33.
240. Ptacek I, Sebire NJ, Man, JA, Brownbill P, Heazell AE. Systematic review of placental pathology reported in association with stillbirth. *Placenta.* 2014;35(8):552–62.doi:10.1016/j.placenta.2014.05.011
241. Ptacek I, Smith A, Garrod A, Bullough S, Bradley N, Batra G, et al. Quantitative assessment of placental morphology may identify specific causes of stillbirth. *BMC Clin Pathol.* 2016;16:1.doi:10.1186/s12907-016-0023-y.
242. Rahman A, Cahill LS, Zhou YQ, Hoggarth J, Rennie MY, Seed M, et al. A mouse model of antepartum stillbirth. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(4):443.doi:10.1016/j.ajog.2017.06.009.
243. Rohini M, Yogesh AS, Goyal M, Praveen Kurrey. Histological Changes in the Placentae from Severe Anaemic Mothers. *International Journal of Medical and Health Sciences.* 2013;2(1):30-5.
244. Romero R, Nicolaides K, Conde-Agudelo A,O'Brien JM, Cetingoz E, da Fonseca E,et al. Vaginal progesterone decreases preterm birth≤34weeks of gestation

in women with a singleton pregnancy and a short cervix: an updated meta-analysis including data from the OPPTIMUM study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;48(3):308–17.doi:10.1002/uog.15953

245. Salafia CM, Thomas DM, Roberts DJ, Straughen JK, Catalano PM, Perez-Avilan G. First Trimester Detection of Placental Disease: Challenges and Opportunities. *Am J Perinatol.* 2016;33(13):1306-12.doi:10.1055/s-0036-1586508.

246. Salafia CM, Yampolsky M, Shlakhter A, Mandel DH, Schwartz N. Variety in placental shape: When does it originate? *Placenta.* 2012;33(3):164-70. doi:10.1016/j.placenta.2011.12.002.

247. Sankar KD, Bhanu PS, Ramalingam K, Kiran S, Ramakrishna BA. Histomorphological and morphometrical changes of placental terminal villi of normotensive and preeclamptic mothers. *Anat Cell Biol.* 2013;46:285–90. doi:https://doi.org/10.5115/acb.2013.46.4.285

248. Saragade P, Chaudhari R, Chakravarti A. Study of Histopathological findings of Placenta in Cases of Deliveries at Tertiary Health Care Institute. *Journal of Medical Sciences.* 2017;4(2):165–71. doi: https://doi.org/10.18311/mvpjms/2017/v4/i2/10997

249. Scherholz PL, de Souza PC, Spadacci-Morena DD, Katz SG. Vimentin is synthesized by mouse vascular trophoblast giant cells from embryonic day 7.5 onwards and is a characteristic factor of these cells. *Placenta.* 2013;34(7):518–25.doi:10.1016/j.placenta.2013.04.003

250. Shao J, Lou J, Rao R, et al. Maternal serum ferritin concentration is positively associated with newborn iron stores in women with low ferritin status in late pregnancy. *J Nutr.* 2012;142(11):2004-09. doi:10.3945/jn.112.162362

251. Sherin F, Afzal E, Seema N. Gross morphological changes in premature and post mature human placentae. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2015;27(2):448-50.

252. Siddheshware R, Patil SS, Sambarey PW. Clinical correlation with pathology of placenta in medical disorders of pregnancy and its comparison in normal pregnancy. *IJRCOG.* 2017;6(1):127-32.doi: 10.18203/2320-1770.ijrcog20164645

253. Simeone S, Franchi C, Marchi L, Rambaldi MP, Serena C, Vitagliano A, et al. Management of placental mesenchymal dysplasia associated with fetal anemia and IUGR. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;184:132-4. doi:10.1016/j.ejogrb.2014.09.024

254. Sneider K, Christiansen OB, Sundtoft IB, Langhoff-Roos J. Recurrence of second trimester miscarriage and extreme preterm delivery at 16-27 weeks of gestation with a focus on cervical insufficiency and prophylactic cerclage. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016;95(12):1383-90.doi:10.1111/aogs.13027.

255. Soni RB, Nair S. Study of histological changes in placenta of anaemic mothers. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences.* 2013;9(6):42–6. doi:https://doi.org/10.9790/0853-0934246

256. Soto E, Romero R, Kusanovic JP, Ogge G, Hussein Y, Yeo L, et al. Late-onset preeclampsia is associated with an imbalance of angiogenic and anti-angiogenic factors in patients with and without placental lesions consistent with maternal underperfusion. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(5):498–507. doi:10.3109/14767058.2011.591461

257. Starikov R, Inman K, Chen K, Lopes V, Coviello E, Pinar H, et al. Comparison of placental findings in type 1 and type 2 diabetic pregnancies. *Placenta.* 2014;35(12):1001-6. doi:10.1016/j.placenta.2014.10.008.

258. Thomas CE, Guillet R, Queenan RA, Cooper EM, Kent TR, Pressman EK, et al. Vitamin D status is inversely associated with anemia and serum erythropoietin during pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 2015;102(5):1088-95. doi:10.3945/ajcn.115.116756.

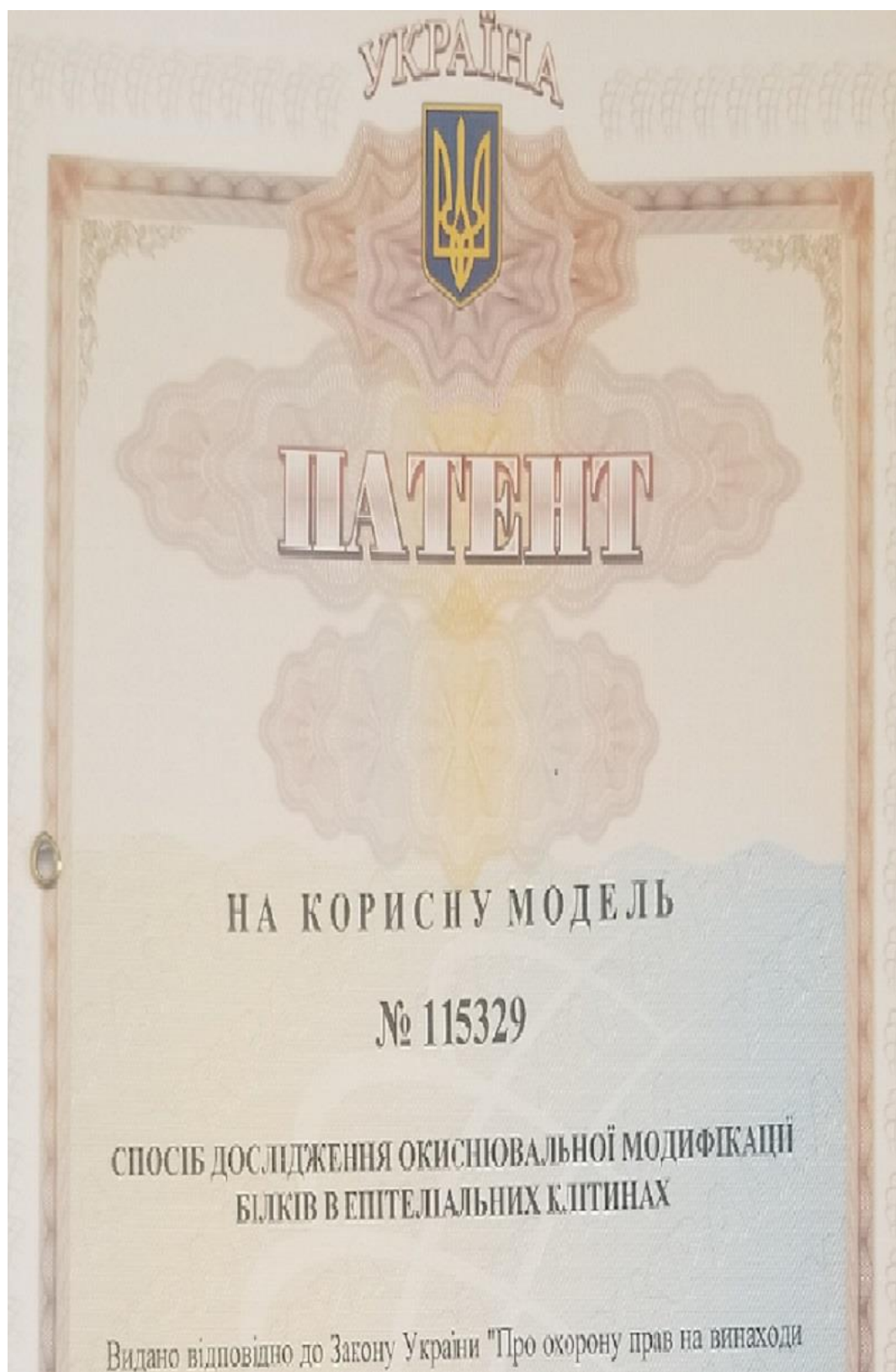
259. Thornburg KL, Kolahi K, Pierce M, Valent A, Drake R, Louey S. Biological features of placental programming. *Placenta.* 2016;48(1):47-53. doi:10.1016/j.placenta.2016.10.012

260. Triunfo S, Crovetto F, Crispi F, Rodriguez-Sureda V, Dominguez C, Nadal A, et al. Association of first-trimester angiogenic factors with placental histological findings in late-onset preeclampsia. *Placenta.* 2016;42:44-50. doi:10.1016/j.placenta.2016.04.005

261. Umazume T, Yamada T, Morikawa M, Ishikawa S, Kojima T, Cho K, et al. Occult fetomaternal hemorrhage in women with pathological placenta with respect to permeability. *J Obstet Gynaecol Res.* 2016;42(6):632-9. doi:10.1111/jog.12959
262. van Dijk SJ, Zhou J, Peters TJ, Buckley M, Sutcliffe B, Oytam Y, et al. Effect of prenatal DHA supplementation on the infant epigenome: results from a randomized controlled trial. *Clin Epigenetics.* 2016;8:114.doi:10.1186/s13148-016-0281-7.
263. Visentin S, Londero AP, Camerin M, Grisan E, Cosmi E. A possible new approach in the prediction of late gestational hypertension The role of the fetal aortic intima-media thickness. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(2):5515. doi:10.1097/MD.0000000000005515
264. Wen X, Triche EW, Hogan JW, Shenassa ED, Buka SL. Association Between Placental Morphology and Childhood Systolic Blood Pressure. *Hypertension.* 2011;57(1):48-55. doi:10.1161/hypertensionaha.110.162792.
265. Young MF, Pressman E, Foehr ML, McNanley T, Cooper E, Guillet R, et al. Impact of maternal and neonatal iron status on placental transferrin receptor expression in pregnant adolescents. *Placenta.* 2010;31(11):1010-4. doi:10.1016/j.placenta.2010.08.009.

Додаток А

Патент на корисну модель



27.10.2019

IMG_7571.JPG

(11) 115329

(19) UA

(51) МПК (2017.01)
A61B 10/00
G01N 33/50 (2008.01)

(21) Номер заявки: и 2016 11329 (22) Дата подання заявки: 09.11.2016 (24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.04.2017 (46) Дата публікації відомостей про видіну патенту та номер бюлетеня: 10.04.2017, Бюл. № 7	(72) Винахідники: Давиденко Ігор Святославович, UA, Давиденко Оксана Миколаївна, UA, Мироник Олена Володимирівна, UA, Лазарук Олександр Володимирович, UA, Гармасьок Олександра Василівна, UA, Попович Андрій Іванович, UA, Іліка Віталій Валер'янович, UA (73) Власник: ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ" МОЗ УКРАЇНИ, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002, UA
---	---

(54) Назва корисної моделі:
СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ОКСИДОВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ В ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ КЛІТИНАХ

(57) - Формула корисної моделі:
Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, при якому застосовують бар'єрні бромфенолові скляні та квітчасті мікроспектрофотометричний аналіз цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки, яка здійснюється тим, що хімічну фіксацію препаратів-відбитків проводять на предметних склянках з електричним принципом клітинної адгезії у парах параформальдегіду.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 115329 (13) U

(51) МПК (2017.01)

A61B 10/00

G01N 33/50 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 11329

(22) Дата подання заявки: 09.11.2016

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: 10.04.2017(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 10.04.2017, Бюл.№ 7

(72) Винахідник(и):

Давиденко Ігор Святославович (UA),
Давиденко Оксана Миколаївна (UA),
Мироник Олена Володимирівна (UA),
Лазарук Олександр Володимирович
(UA),
Гарвасюк Олександра Василівна (UA),
Попович Андрій Іванович (UA),
Іліка Віталій Валер'янович (UA)

(73) Власник(и):

ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ
ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ
ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ"
МОЗ УКРАЇНИ,
пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)

(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ В ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ КЛІТИНАХ

(57) Реферат:

Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, при якому застосовують барвник бромфеноловий синій та комп'ютерно мікроспектрофотометричний аналіз цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки. Хімічну фіксацію препаратів-відбитків проводять на предметних скельцях з електричним принципом клітинної адгезії у парах параформальдегіду.

UA 115329 U

UA 115329 U

- Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до патологічної анатомії, і може бути використана для морфологічної діагностики хвороб, при яких активізуються вільнорадикальні процеси в епітеліальних клітинах, зокрема, зростає інтенсивність окиснювальної модифікації білків наприклад, інфекційні захворювання, анемії, захворювання легень, пухлинні захворювання, інтоксикації тощо.
- Сучасна медицина володіє багатьма засобами для місцевої чи загальної корекції вільнорадикальних процесів, у тому числі окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, окрім того, практика медицини потребує засобів прогнозування перебігу захворювань.
- Тому, вкрай важливим для практичної медицини є удосконалення діагностики змін в епітеліальних клітинах при різних захворюваннях.
- Найближчим аналогом до корисної моделі є спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків [Пат. № 38260, МПК А61В 10/00. Спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків у тканині печінки /Давиденко І.С., Ленга Е.Л., Мешишен І.Ф.; Заявник Давиденко І.С., Ленга Е.Л., Мешишен І.Ф., заяв. № u200810681 від 27.08.2008, опубл. 25.12.2008, бюл. № 24], в якому досліджували гістологічні парафінові зрізи печінки, які попередньо піддавали хімічній фіксації на звичайних чистих знежирених предметних скельцях в нейтральному забуференому розчині формаліну, потім проводили гістохімічне забарвлення бромфеноловим синім при низькому рН "кислих" та "основних" білків за методом Мікель-Кальво, та проводили комп'ютерний мікроспектрофотометричний аналіз цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки.
- Недоліком найближчого аналога є те, що для хімічної фіксації використовують чисті знежирені предметні скельця, які володіють порівняно низькими адгезивними властивостями щодо епітеліальних клітин, та водний розчин формальдегіду.
- В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалити спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах шляхом проведення хімічної фіксації препаратів-відбитків на предметних скельцях з електричним принципом клітинної адгезії у парах параформальдегіду.
- Поставлена задача вирішується тим, що спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків, при якому застосовують барвник бромфеноловий синій та комп'ютерно мікроспектрофотометричний аналіз цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки, згідно з корисною моделлю, хімічну фіксацію препаратів-відбитків проводять на предметних скельцях з електричним принципом клітинної адгезії у парах параформальдегіду.
- При різних захворюваннях закономірно повинні зазнавати суттєвих змін показники окиснювальної модифікації білків. Так, індекс R/B (міра окиснювальної модифікації білків) зростає в епітеліальних клітинах в порівнянні з практично здоровими особами при ангінах, дерматитах, епітеліальних пухлинах різних органів, в трофобласті плаценти при залізододефіцитній анемії вагітних та інших захворюваннях.
- Епітеліальні клітини при виготовленні препаратів-відбитків на відміну, наприклад, від клітин крові, значно гірше утримуються на чистих предметних скельцях внаслідок порівняно низьких адгезивних властивостей епітеліальних клітин; застосування ж класичних білкових плівкових покриттів для підвищення адгезії клітин до скла (наприклад, яєчний білок чи білок сироватки крові) непридатні для гістохімічної методики на окиснювальну модифікацію білків, так як білкове покриття предметного скельця так само дає позитивну реакцію на білок, як і білки клітин, тому частково перебиває позитивну реакцію в епітеліальних клітинах і тому перешкоджає отриманню істинних результатів дослідження.
- Варто зазначити, що використання для фіксації препаратів-відбитків саме парів параформальдегіду замість водного розчину формальдегіду чи водних розчинів інших хімічних фіксаторів значно покращує електричну адгезію епітеліальних клітин до предметних скельців і є важливим засобом збереження структур епітеліальних клітин на предметних скельцях.
- Корисна модель здійснюють наступним чином.
- У пацієнта беруть препарат-відбиток органа, де добре представлена епітеліальна тканина (наприклад, мигдалики, шкіра, плацента), при цьому його роблять за допомогою предметного скельця з фабричною електричною адгезією, наприклад, предметні скельця "SuperFrost®" або "Histobond™", далі препарат-відбиток висушують не менше ніж протягом 20 хвилин при температурі 20-25 °C і відносній вологості не більше 70 %. Висушений препарат-відбиток з метою хімічної фіксації розміщують в закритій ємності (наприклад, в ексікаторі) разом з присутнім там параформальдегідом на 10-15 хвилин, далі препарат-відбиток занурюють у робочий розчин барвника бромфенолового синього і тримають у ньому при 20-25 °C протягом 8 хвилин, після чого обробляють у диференціюючому розчині з кислотою, далі промивають двічі у дистильованій воді і висушують протягом 10 хвилин, потім за допомогою оптичного мікроскопа та цифрової фотокамери роблять цифрову кольорову копію оптичного зображення лейкоцитів

UA 115329 U

препарату-відбитка і засобами комп'ютерної програми ImageJ отримують мікроспектрофотометричні показники R та B, на основі яких розраховують індекс R/B, який є мірою окиснювальної модифікації білків.

Приклад застосування корисної моделі.

- 5 Застосування запропонованого способу показало на практиці свою ефективність у прогнозуванні тяжкості перебігу захворювання за станом епітеліальних клітин певного органу, наприклад, при ангіні чи при раку молочної залози, тобто запропонований спосіб придатний для дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, що призводить до ефективного складання прогнозу захворювання, при якому суттєвою ознакою є ураження саме епітеліальних клітин.

- 10 Спосіб дозволяє проводити ефективне дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, покращує візуалізацію епітеліальних клітин із максимальним збереженням цілісності їх структур у препаратах-відбитках.

- 15 **ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ**

- Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, при якому застосовують баранник бромфеноловий синій та комп'ютерно мікроспектрофотометричний аналіз цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки, який відрізняється тим, що
- 20 хімічну фіксацію препаратів-відбитків проводять на предметних скельцях з електричним принципом клітинної адгезії у парах параформальдегіду.

Комп'ютерна верстка М. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601

Додаток Б

Акти впровадженнь

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Начальник КЗ ЛОР

«Львівське патологоанатомічне бюро»

п. _____

Б.Й. Рубін

“21” _____

2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1). **Назва впровадження:** «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах».
- 2). **Установа розробник:** Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58000, кафедра патологічної анатомії, д.мед.н., професор Давиденко І.С., асистент Гарвасюк О.В.
- 3). **Джерело інформації:** Давиденко І.С., Давиденко О.М., Мироник О.В., Лазарук О.В., Гарвасюк О.В., Попович А.І., Іліка В.В. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах // Патент України на корисну модель № 115329. Номер заявки: у 2016 11329. Дата подання заявки: 9.11.2016. Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.04.2017 Публікація відомостей про видачу патенту: 10.04.2017, Бюл. № 7.
- 4). **Впроваджено у діагностичну роботу** КЗ ЛОР «Львівського обласного патологоанатомічного бюро» м. Львів
- 5). **Термін впровадження:** березень 2018 вересень 2018
- 6). **Загальна кількість спостережень** 182 випадки
- 7). **Ефективність впровадження:** Матеріали, що подані здобувачем Олександром Василюком Гарвасюком мають теоретичне та практичне значення, дозволяють покращити діагностику захворювань, при яких мають місце процеси вільно-радикального ураження епітеліальних клітин.
- 8). **Зауваження, пропозиції:** зауважень немає. Застосовувати в діагностичній роботі КЗ ЛОР «Львівського обласного патологоанатомічного бюро»

Відповідальний за впровадження:

Начальник КЗ ЛОР

«Львівське обласне патологоанатомічне бюро»

Б.Й.Рубін

“21” лютого 2018 року



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор ДВНЗ

«Івано-Франківський національний
медичний університет»

д.біол.н., професор

Г.М.Ерстенюк
2018р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** «Плацентарна лужна фосфатаза в трофобласті плаценти вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасному дозріванні хоріального дерева в гестаційному аспекті».
- 2. Установа-розробник:** Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58000, кафедра патологічної анатомії, асистент Гарвасюк О.В., д.мед.н., професор Давиденко І.С.
- 3. Джерело інформації:** Гарвасюк О.В. Давиденко І.С., Давиденко О.М. Плацентарна лужна фосфатаза в трофобласті плаценти вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасному дозріванні хоріального дерева. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2017; 16, (1), 11-5.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Державний вищий навчальний заклад «Івано-Франківський національний медичний університет».
- 5. Форма впровадження:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри патоморфології та судової медицини, у матеріали лекцій та практичних занять із патоморфології.
- 6. Термін впровадження:** березень 2018 – грудень 2018
- 7. Зауваження, пропозиції:** зауважень немає.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патоморфології та
судової медицини Івано-Франківського
національного медичного університету
д.мед.н., професор

Михайлюк І.О.

“ЗАТВЕРДЖУЮ”



Головний лікар Сторожинецької ЦРЛ

О. Ф. Войцеховський

«02» березня 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1). **Назва впровадження:** «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах».
- 2). **Установа розробник:** Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58000, кафедра патологічної анатомії, асистент Гарвасюк О.В., д.мед.н., професор Давиденко І.С.,
- 3). **Джерело інформації:** Давиденко І.С., Давиденко О.М., Мироник О.В., Лазарук О.В., Гарвасюк О.В., Попович А.І., Іліка В.В. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах // Патент України на корисну модель № 115329. Номер заявки: у 2016 11329. Дата подання заявки: 9.11.2016. Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.04.2017 Публікація відомостей про видачу патенту: 10.04.2017, Бюл. № 7.
- 4). **Впроваджено** у діагностичну роботу гінекологічного відділення Сторожинецької ЦРЛ.
- 5). **Термін впровадження:** березень 2018 - вересень 2018
- 6). **Загальна кількість спостережень** 182 випадки
- 7). **Ефективність впровадження:** Матеріали, що подані дозволить покращити діагностику захворювань, при яких мають місце процеси вільно-радикального ураження епітеліальних клітин.
- 8). **Зауваження, пропозиції:** зауважень немає. Застосовувати в діагностичній роботі Сторожинецької ЦРЛ

Відповідальний за впровадження:

Завідувач пологовим та гінекологічним

відділенням Сторожинецької ЦРЛ В.Д. Манчуленко

«02» березня 2018 року



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Начальник обласної комунальної
медичної установи

«Патологоанатомічне бюро»

к.мед.н. Д.І.Гречко«01» березня 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1). **Найменування пропозиції для впровадження:** «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах».
- 2). **Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58000, кафедра патологічної анатомії, д.мед.н., професор Давиденко І.С., асистент Гарвасюк О.В.
- 3). **Джерело інформації:** Давиденко І.С., Давиденко О.М., Мироник О.В., Лазарук О.В., Гарвасюк О.В., Попович А.І., Іліка В.В. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах // Патент України на корисну модель № 115329. Номер заявки: у 2016 11329. Дата подання заявки: 9.11.2016. Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.04.2017 Публікація відомостей про видачу патенту: 10.04.2017, Бюл. № 7.
- 4). **Впроваджено в ОКМУ «Патологоанатомічне бюро»**
- 5). **Термін впровадження:** березень 2018р. по вересень 2018
- 6). **Загальна кількість спостережень:** 182
- 7). **Зауваження, пропозиції:** зауважень немає. Матеріали, що подані здобувачем Олександром Василівною Гарвасюк мають теоретичне та практичне значення, дозволяють покращити діагностику захворювань, при яких мають місце процеси вільно-радикального ураження епітеліальних клітин.

Відповідальний за впровадження Зав. відділ ґістол. патол. №1
з гіст. лабор. Герасюк - Новбасюк О.Б./ПМ (посада, ППБ, підпис)
 «01» березня 2018 року

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Вищого державного навчального закладу
України «Буковинський державний
медичний університет»

доцент  І.В.Геруш

«01» березня 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1). **Пропозиція для впровадження:** «Морфометричні параметри передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у гестаційному аспекті».
- 2). **Установа-розробник:** Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58000, кафедра патологічної анатомії, д.мед.н., професор Давиденко І.С., асистент Гарвасюк О.В.
- 3). **Джерело інформації:** Гарвасюк О.В., Давиденко І.С.; Морфометричні параметри передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у гестаційному аспекті; Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина; 2015; Т. №4 (18): С.90-95.
- 4). **Базова установа, яка проводить впровадження:** Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет»
- 5). **Форма впровадження:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри, у матеріали лекцій та практичних занять з дисципліни Патоморфологія.
- 6). **Термін впровадження:** березень 2018 р. – жовтень 2018 р.

Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії (протокол №9 від 13 лютого 2018 року).

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної анатомії

Вищого державного навчального закладу України

«Буковинський державний медичний університет»,

д.мед.н., професор



І.С.Давиденко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар Комунальної установи

«Чернівецький обласний клінічний
онкологічний диспансер»

Ташук І.В.

2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1). **Найменування пропозиції для впровадження:** «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах».
- 2). **Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, 58000, пл. Театральна, 2, кафедра патологічної анатомії, д.мед.н., професор Давиденко І.С., асистент Гарвасюк О.В.
- 3). **Джерело інформації:** Давиденко І.С., Давиденко О.М., Мироник О.В., Лазарук О.В., Гарвасюк О.В., Попович А.І., Іліка В.В. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах // Патент України на корисну модель № 115329. Номер заявки: у 2016 11329. Дата подання заявки: 9.11.2016. Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.04.2017 Публікація відомостей про видачу патенту: 10.04.2017, Бюл. № 7.
- 4). **Впроваджено в** Комунальну установу «Чернівецький обласний клінічний онкологічний диспансер», 2018р.
- 5). **Термін впровадження:** березень 2018р. по вересень 2018р.
- 6). **Загальна кількість спостережень:** 182
- 7). **Зауваження, пропозиції:** зауважень немає. Матеріали, що подані здобувачем Олександром Василівною Гарвасюк мають теоретичне та практичне значення, дозволяють покращити діагностику захворювань, при яких мають місце процеси вільно радикального ураження епітеліальних клітин.
- 8). **Відповідальний за впровадження:** Завідуюча лабораторією
Відділення цитології Гарвасюк І.П. (посада, ПБ, підпис)
« 01 » 03 2018 року

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з
науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
чл-кор. НАМН України



М.Р.Гжегоцький

«02» березня 2018р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1). **Пропозиція для впровадження:** «Морфометричні параметри передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у гестаційному аспекті».
- 2). **Установа-розробник:** Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58000, кафедра патологічної анатомії, д.мед.н., професор Давиденко І.С., асистент Гарвасюк О.В.
- 3). **Джерело інформації:** Гарвасюк О.В., Давиденко І.С.; Морфометричні параметри передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у гестаційному аспекті; Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина; 2015; Т. №4 (18): С.90-95.
- 4). **Де впроваджено:** в навчальний процес кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
- 5). **Форма впровадження:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри, у матеріали лекцій та практичних занять із патоморфології.
- 6). **Термін впровадження:** березень 2018 – грудень 2018
- 7). **Зауваження, пропозиції:** використовувати у навчальному процесі кафедри патологічної анатомії та судової медицини.

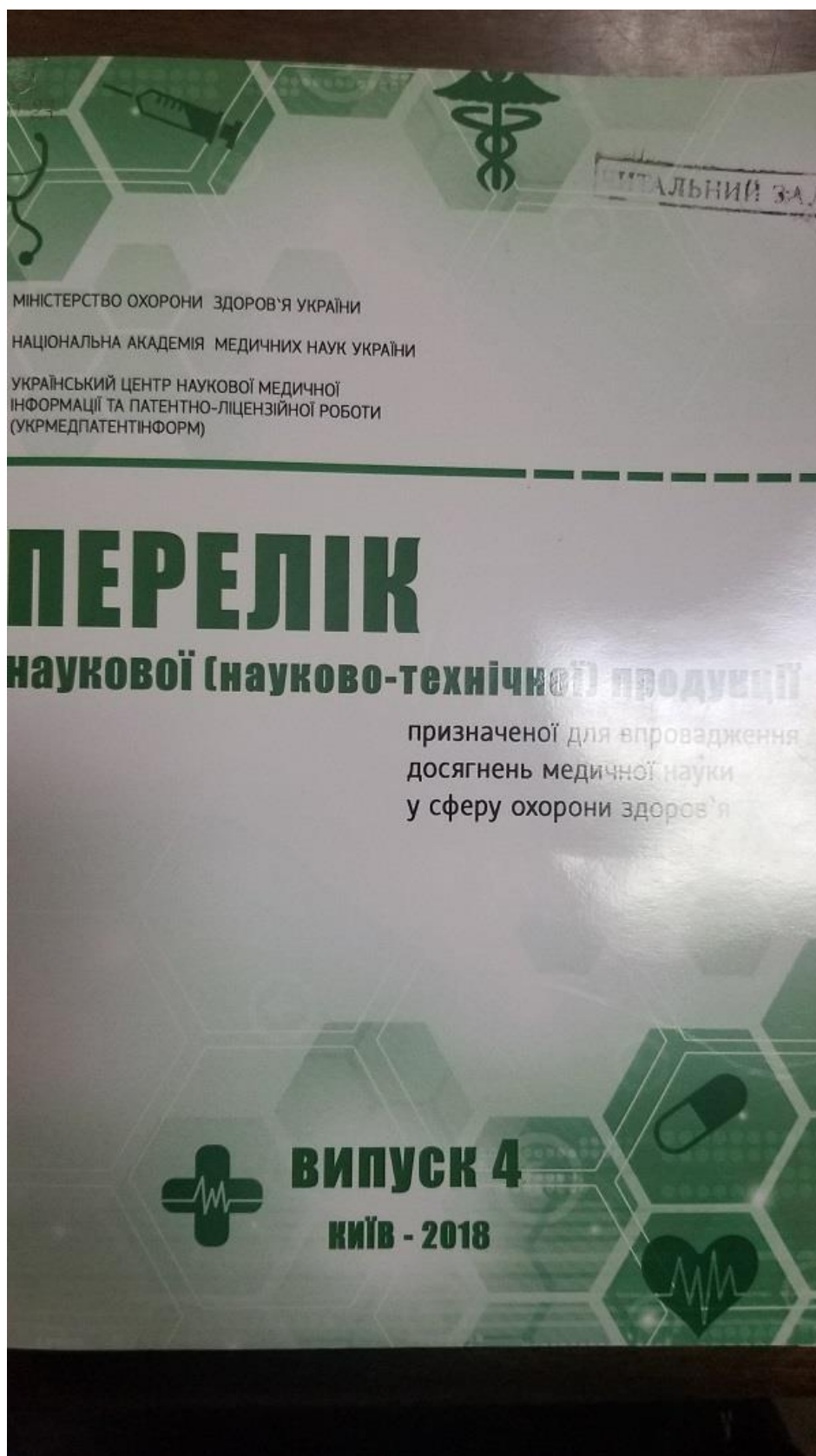
Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної анатомії та судової медицини
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького
д.мед.н., професор

Ю.О.Поспішіль

Додаток В

Реєстр галузевих нововведень



**ДО УВАГИ РОЗРОБНИКІВ ПОВІДОМЛЕНЬ ПРО НАУКОВУ
(НАУКОВО-ТЕХНІЧНУ) ПРОДУКЦІЮ ТА ФАХІВЦІВ, ЩО
ВПРОВАДЖУЮТЬ НАУКОВІ РОЗРОБКИ У СФЕРУ ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, (далі – Перелік) випуск № 4 є щорічною інформаційною збіркою, у якій містяться повідомлення про наукову (науково-технічну) продукцію, отриману за результатами наукової, науково-технічної та науково-організаційної діяльності (далі – наукове повідомлення) підприємств, установ, організацій Міністерства охорони здоров'я України, Міністерства освіти і науки України, Національної академії медичних наук України, що здійснюють наукову, науково-технічну та науково-організаційну діяльність відповідно до пріоритетів сфери охорони здоров'я України (далі – розробник), призначену для практичного застосування у сфері охорони здоров'я.

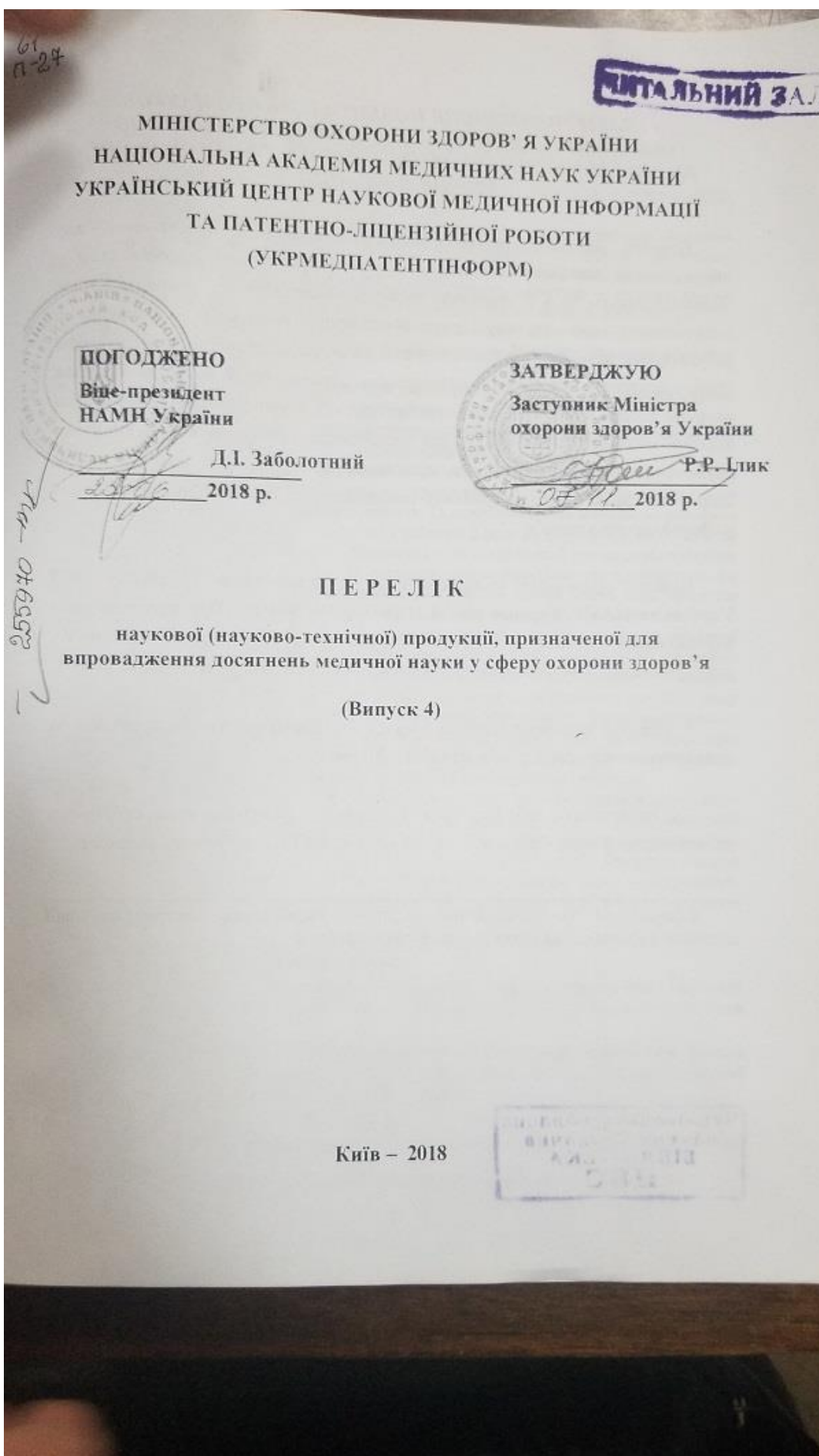
Перелік сформовано у відповідності до вимог спільного Наказу МОЗ України та НАМН України від 13.11.2013 р. № 969/97 «Про удосконалення впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я», зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 05.12.2013 р. за № 2068/24600.

У Перелік включена наукова (науково-технічна) продукція, отримана за результатами наукових досліджень 2016-2017 рр.

На інформацію, що міститься у Переліку, розповсюджуються вимоги законодавства України щодо захисту об'єктів права інтелектуальної власності.

Сформовано та підготовлено до друку Українським центром наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи





Ресстр. № 278/4/17

1. СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ОКИСЛЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ В ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ КЛІТИНАХ.
2. НДР «Морфологічні аспекти патології плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних», 0114U004125, 2014-2018 рр.
3. Патологічна анатомія.
4. 2+,С.
5. Патент України на корисну модель № 115329. МПК А61В 10/00, G01N 33/50 (2006.01). Спосіб дослідження окислювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах / Давиденко І.С., Давиденко О.М., Мироник О.В., Лазарук О.В., Гарвасюк О.В., Попович А.І., Іліка В.В.; заявник та патентовласник Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет». – № u201611329; заявл. 09.11.2016; опубл. 10.04.2017, Бюл. № 7.
6. Немає.
7. У пацієнта беруть препарат-відбиток органа, де добре представлена епітеліальна тканина (наприклад, мигдалики, шкіра, плацента), при цьому його роблять за допомогою предметного скельця з фабричною електричною адгезією. Далі препарат-відбиток висушують не менше ніж протягом 20 хвилин при температурі 20-25°C і відносній вологості не більше 70%. Висушений препарат-відбиток з метою хімічної фіксації розміщують в закритій ємкості (наприклад, в ексікаторі) разом з присутнім там параформальдегідом на 10-15 хвилин, далі препарат-відбиток занурюють у робочий розчин барвника бромфенолового синього і тримають у ньому при 20-25°C протягом 8 хвилин, після чого обробляють у диференціюючому розчині з кислотою, далі промивають двічі у дистильованій воді і висушують протягом 10 хвилин, потім за допомогою оптичного мікроскопа та цифрової фотокамери роблять цифрову кольорову копію оптичного зображення епітеліальних клітин і засобами комп'ютерної програми ImageJ отримують мікроспектрофотометричні показники R та B, на основі яких розраховують індекс R/B, який є мірою окиснювальної модифікації білків.
8. Підвищення ефективності діагностичних маніпуляцій, пришвидшення процесу встановлення діагнозу захворювань, які супроводжуються зростанням рівня окиснювальної модифікації білків в епітеліальних тканинах людини. Медична ефективність: покращення діагностики захворювань, які супроводжуються зростанням рівня окиснювальної модифікації білків в епітеліальних тканинах людини. Соціальна ефективність: покращення якості життя та здоров'я населення за рахунок підвищення ефективності діагностики захворювань, які супроводжуються зростанням рівня окиснювальної модифікації білків в епітеліальних тканинах, що дозволить оптимізувати лікування вказаних захворювань людини. Економічна ефективність: зменшення фінансових витрат на проведення досліджень з оцінки рівня окиснювальної модифікації білків в тканинах людини.
9. Набір реактивів для виконання гістохімічної методики з бромфеноловим синім.
10. Діагностика пошкоджень епітелію при різних захворюваннях.
11. Немає.
12. Помилки можливі тільки в разі застосування інших методів фіксації матеріалу, відмінних від фіксації у параформальдегіді.
13. Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет». 58000, Україна, м. Чернівці, пл. Театральна, 2.
14. Немає.
15. Давиденко І.С. (0951936146), Давиденко О.М. (0660892764), Гарвасюк О.В. (0506681333).

ЗМІСТ

АКУШЕРСТВО І ГІНЕКОЛОГІЯ	стр. 3
АЛЕРГОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ	36
АНЕСТЕЗІОЛОГІЯ ТА ІНТЕНСИВНА ТЕРАПІЯ	38
ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЯ	52
ЗАГАЛЬНА ГПІСНА	62
ДЕРМАТОЛОГІЯ ТА ВЕНЕРОЛОГІЯ	121
ЗАГАЛЬНА ПРАКТИКА – СІМЕЙНА МЕДИЦИНА	130
ЕНДОКРИНОЛОГІЯ	132
ЕНДОСКОПІЯ	140
ЕПІДЕМІОЛОГІЯ	141
ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ	144
КАРДІОЛОГІЯ	157
КЛІНІЧНА ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА	180
ЛІКУВАЛЬНА ФІЗКУЛЬТУРА І СПОРТИВНА МЕДИЦИНА	180
МЕДИЧНА ПСИХОЛОГІЯ ТА ПСИХОТЕРАПІЯ	181
МІКРОБІОЛОГІЯ І ВІРУСОЛОГІЯ	182
НАРКОЛОГІЯ ТА ПСИХІАТРІЯ	184
НЕВРОЛОГІЯ	188
НЕЙРОХІРУРГІЯ	196
ОНКОЛОГІЯ	197
ОРГАНІЗАЦІЯ І УПРАВЛІННЯ ОХОРОНОЮ ЗДОРОВ'Я	214
ОРТОПЕДІЯ І ТРАВМАТОЛОГІЯ	231
ОТОЛАРИНГОЛОГІЯ	241
ОФТАЛЬМОЛОГІЯ	242
ПАТОЛОГІЧНА АНАТОМІЯ	255
ПЕДІАТРІЯ	260
РАДІОЛОГІЯ ТА РЕНТГЕНОЛОГІЯ	301
РЕВМАТОЛОГІЯ	302
СТОМАТОЛОГІЯ	312
СУДОВО-МЕДИЧНА ЕКСПЕРТИЗА	366
ТЕРАПІЯ	369
УРОЛОГІЯ	377
ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ФАРМАЦІЯ	380
ФІЗІОТЕРАПІЯ ТА МЕДИЧНА РЕАБІЛІТАЦІЯ	415
ФТИЗІАТРІЯ ТА ПУЛЬМОНОЛОГІЯ	419
ХІРУРГІЯ. ТРАНСПЛАНТОЛОГІЯ	440
МОРФОЛОГІЯ ЛЮДИНИ	497
НОРМАЛЬНА ТА ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ	517
МЕДИЧНА ПСИХОЛОГІЯ ТА ПСИХІАТРІЯ	530
ОРГАНІЗАЦІЯ І УПРАВЛІННЯ ОХОРОНОЮ ЗДОРОВ'Я	532, 538
ПЕДІАТРІЯ	534
ФІЗІОТЕРАПІЯ ТА МЕДИЧНА РЕАБІЛІТАЦІЯ	537
ДОВІДКОВИЙ АПАРАТ. ПРОБЛЕМИ	541
ДОВІДКОВИЙ АПАРАТ. УСТАНОВИ	547
ЗМІСТ	552

Додаток Г

Раціоналізаторські пропозиції

	
П О С В І Д Ч Е Н Н Я НА РАЦІОНАЛІЗАТОРСЬКУ ПРОПОЗИЦІЮ	
№ <u>6/18</u>	<u>9.01.2018р.</u> дата подачі
Відповідно до п. 35 Тимчасового положення про правову охорону об'єктів промислової власності та раціоналізаторських пропозицій в Україні, затвердженого Указом Президента України від 18 вересня 1992 року № 479/92 це посвідчення видане Гарвасюк О.В., Давиденко І.С. прізвище, ім'я, по батькові	
на пропозицію, яка подана <u>Вищому державному навчальному закладу України «Буковинський державний медичний університет»</u>	
і визнана раціоналізаторською під назвою <u>Застосування хімічної фіксації препаратів-відбитків у парах параформальдегіду для вдосконалення способу діагностики індексу окислювальної модифікації білків епітеліальних клітинах</u>	
	
Ректор Т.М. Бойчук Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»	



П О С В І Д Ч Е Н Н Я
НА РАЦІОНАЛІЗАТОРСЬКУ ПРОПОЗИЦІЮ

№ 7/18 9.01.2018 р.
дата подачі

Відповідно до п. 35 Тимчасового положення про правову охорону об'єктів промислової власності та раціоналізаторських пропозицій в Україні, затвердженого Указом Президента України від 18 вересня 1992 року № 479/92 це посвідчення видане

Гарвасюк О.В., Давиденко І.С.
прізвище, ім'я, по батькові

на пропозицію, яка подана Вищому державному навчальному закладу України «Буковинський державний медичний університет»
назва підприємства, установи, організації

і визнана раціоналізаторською під назвою _____

Використання термопоту для демаскування антигенів при виконанні імунохімічних реакцій



Ректор
Вишого державного
навчального закладу України
«Буковинський державний
медичний університет»
Т.М. Бойчук

П О С В І Д Ч Е Н Н Я
НА РАЦІОНАЛІЗАТОРСЬКУ ПРОПОЗИЦІЮ

№ 8/18 9.01.2018р.
дата подачі

Відповідно до п. 35 Тимчасового положення про правову охорону об'єктів промислової власності та раціоналізаторських пропозицій в Україні, затвердженого Указом Президента України від 18 вересня 1992 року № 479/92 це посвідчення видане

Гарвасюк О.В., Давиденко І.С.
прізвище, ім'я, по батькові

на пропозицію, яка подана Вищому державному навчальному закладу України «Буковинський державний медичний університет»

і визнана раціоналізаторською під назвою _____

Спосіб для виконання різних імунохімічних реакцій на одному предметному скельці



Ректор
 Вищого державного навчального закладу України
 «Буковинський державний медичний університет»
Т.М. Бойчук

Додаток Д

Відомості про апробацію результатів дисертації

1. XV Конгрес СФУЛТ (Чернівці, Україна, 2014) – публікація тез, усна доповідь;
2. Науково-практична інтернет-конференції з міжнародною участю «Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини» (Чернівці, Україна, 2014) – публікація тез;
3. II Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів та молодих учених (Чернівці, Україна, 2015) – публікація тез, усна доповідь;
4. III Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів та молодих учених (Чернівці, Україна, 2016) – публікація тез, усна доповідь;
5. IV Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів і молодих учених (Чернівці, Україна, 2017) – публікація тез, усна доповідь;
6. XXI Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих учених; (Тернопіль, Україна, 2017) публікація тез, усна доповідь;
7. «Annual Young Medical Scientists Conference 2017 (AYMS Conf 2017)» (Київ, Україна, 2017) публікація тез, усна доповідь;
8. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції» (Чернівці, Україна, 2017) – публікація тез, усна доповідь;
9. V Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів і молодих учених (Чернівці, Україна, 2018) – публікація тез, усна доповідь;
10. XXII Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених (Тернопіль, України 2018) – публікація тез, усна доповідь;
11. VI Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів і молодих учених (Чернівці, Україна, 2019) – публікація тез, усна доповідь;
12. Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині» (Чернівці, Україна, 2019) – публікація тез.

Додаток Е

Наукові праці, опубліковані за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Морфометричні параметри передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у гестаційному аспекті. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2015;5(2):81-5. *(Особистий внесок: здобувачем проведено аналіз літератури, гістологічне дослідження, сформульовано висновки, підготовано статтю до друку).*
2. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС, Тащук КГ. Імуногістохімічна концентрація плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасному дозріванні хоріального дерева. Буковинський медичний вісник. 2017;21(1):34-8. *(Особистий внесок: здобувачем проведено аналіз літератури, збір матеріалу, імуногістохімічне дослідження, сформульовано висновки, підготовано статтю до друку).*
3. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Плацентарна лужна фосфатаза в трофобласті плаценти вагітних із залізодефіцитною анемією за умов передчасного дозрівання хоріального дерева. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2017;16(1):11-6. *(Особистий внесок: здобувачем проведено аналіз літератури, збір матеріалу, імуногістохімічне дослідження, сформульовано висновки, підготовано статтю до друку).*
4. Гарвасюк ОВ., Давиденко ІС. Імуногістохімічна кількісна оцінка 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті при передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти на фоні залізодефіцитної анемії вагітних. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина 2017;7(2):56-60. *(Особистий внесок: проведено аналіз літератури, збір матеріалу, узагальнення та аналіз одержаних даних, сформульовано висновки, підготовано статтю до друку).*

5. Garvasiuk O, Davydenko I. Quantitative assessment of the results of vimentin immunohistochemical examination in fibroblasts and endotheliocytes of the placental villi in the aspect of preterm maturation of the chorionic tree and iron deficiency anemia of gravidas. Georgian Medical News. 2017;273:95-9. *(Особистий внесок: проведено аналіз літератури, збір матеріалу, імуногістохімічне дослідження, сформульовано висновки, здійснено переклад тексту статті на англійську мову, підготовано статтю до друку).*

6. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Гістохімічні особливості обмеженого протеолізу та окиснювальної модифікації білків у трофобласті плаценти при поєднанні передчасного дозрівання хоріального дерева та залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(4):24-9. *(Особистий внесок: проведено аналіз літератури, збір матеріалу, сформульовано висновки, підготовано статтю до друку).*

7. Гарвасюк ОВ. Імуногістохімічне дослідження процесів регуляції клітинної маси вільозного трофобласта при залізодефіцитній анемії вагітних та передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти. Буковинський медичний вісник. 2018;22(3):8-13.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Нові сучасні підходи щодо мікроскопічної діагностики окремих типів ушкоджень поверхні трофобластахоріальних ворсинок плаценти. В: Нечаїв С, редактор. Матеріали XV Конгресу СФУЛТ; 2014 Жов 16-18; Чернівці. Українські медичні вісті. 2014;11(1-4):468. *(Особистий внесок: проведено аналіз літератури, патоморфологічний аналіз біопсійного матеріалу, сформульовано висновки, підготовано тези до друку).*

9. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Імуногістохімічне дослідження плацентарної лужної фосфатази при передчасному дозріванні хоріального дерева у вагітних із анемією. В: Матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини; 2014 Лис 26-17; Чернівці. Чернівці; 2014. *(Особистий внесок:*

проведено аналіз літератури, патоморфологічний аналіз біопсійного матеріалу, сформульовано висновки, підготовано тези до друку).

10. Гарвасюк ОВ. Морфологічні особливості хоріального дерева при його передчасному дозріванні у жінок із залізодефіцитною анемією у термін гестації 33-36 тижні. Хист. 2015;17:257.

11. ГреськоАС, Гарвасюк ОВ. Розподіл протеїнів ВАНХ у клітинах Гофбауера плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних. Хист. 2016;18:355. *(Особистий внесок: здобувачу належить ідея роботи, здійснено аналіз та узагальнення одержаних даних, підготовано тези до друку).*

12. Гарвасюк ОВ, Паранюк ЮД. Дослідження хоріонічного гонадотропіну у трофобласті плаценти у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасному дозріванні хоріального дерева у термін гестації 33-36 тижнів. Хист. 2017;19:305. *(Особистий внесок: здобувачу належить ідея роботи, здійснено аналіз та узагальнення одержаних даних, підготовано тези до друку).*

13. Гарвасюк ОВ. Активність та імуногістохімічна концентрація плацентарної лужної фосфатази в трофобласті плаценти з передчасним дозріванням у вагітних на фоні залізодефіцитної анемії у термін гестації 33-36 тижні. В: Матеріали XXI Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих учених; 2017 Кві 24-26; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2017, с. 323.

14. Гарвасюк ОВ. Дослідження 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті плаценти з передчасним дозріванням хоріального дерева у вагітних із залізодефіцитною анемією вагітних в термін гестації 29-32 тижнів вагітності. В: Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(3):27.

15. Petrochenkov H, Garvasiuk O. Immunohistochemical concentration of human chorionic gonadotropin in the placenta's trophoblast cell with early maturation of placental villous tree considering the iron-deficiency anemia of pregnant. В.: Український науково-медичний молодіжний журнал; 2017, с. 33. *(Особистий внесок: здобувачу належить ідея роботи, здійснено аналіз та*

узагальнення одержаних даних, підготовано тези до друку).

16. Гарвасюк ОВ, Петроченков ГП, Мазур ЯІ. Вплив залізодефіцитної анемії вагітних на кількісні параметри віментину в ендотеліоцитах хоріальних ворсинок плаценти в гестаційному аспекті. В: «BIMCOJornal» - Збірник матеріалів Буковинського міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих учених, BIMCO 2018; с. 275. *(Особистий внесок: здобувачу належить ідея роботи, здійснено аналіз та узагальнення одержаних даних, підготовано тези до друку).*

17. Гарвасюк ОВ. Імуногістохімічне дослідження 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті плаценти в поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних у термін 33-36 тижні гестації. В: Матеріали XXII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих учених; 2018 Кві 23-25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 323.

18. Гарвасюк ОВ. Імуногістохімічне дослідження протиапоптотичного протеїну vcl-2 при залізодефіцитній анемії вагітних та передчасному дозріванні хоріального дерева плаценти у 29-32 тижні гестації. В: «BIMCOJornal» - Збірник матеріалів Буковинського міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих учених, BIMCO 2019; с. 285.

19. Гарвасюк ОВ. Дослідження окиснювальної модифікації білків в трофобласті плаценти із передчасним дозріванням хоріальних ворсинок в поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних в термін гестації 33-36 тижнів вагітності. В: Матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині; 2019 Жов 24-5; Чернівці. Чернівці; 2019, с. 43-4.

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

20. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Гарвасюк ОВ. Спосіб дослідження окислювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я (Реєстр. № 278/4/17). Київ, 2018. с.

256-7. *(Особистий внесок: здобувачем прийнято участь в експерименті, підготовано супровідну документацію та оформлення нововведення).*

21. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Мироник ОВ, Лазарук ОВ, Гарвасюк ОВ, Попович АІ, та ін., винахідники; Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», патентовласник. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Патент України № 115329. 2017 Кві 10. *(Особистий внесок: проведено аналіз літератури та аналіз існуючих патентів, проведено патентний пошук, прийнято участь в експериментах, оформлення патенту).*

22. Гарвасюк ОВ. Застосування предметних скелець з електричним принципом клітинної адгезії для вдосконалення способу діагностики індексу окиснюваної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Раціоналізаторська пропозиція №9/18 від 09.01.2018р.

23. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Спосіб для виконання різних імуногістохімічних реакцій на одному предметному скельці. Раціоналізаторська пропозиція №8/18 від 09.01.2018р. *(Особистий внесок: здобувачу належить ідея, оформлено супровідну документацію).*

24. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Використання термопоту для демаскування антигенів при виконанні імуногістохімічних реакцій. Раціоналізаторська пропозиція №7/18 від 09.01.2018р. *(Особистий внесок: здобувачу належить ідея, оформлено супровідну документацію).*

25. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Застосування хімічної фіксації препаратів-відбитків у парах параформальдегіду для вдосконалення способу діагностики індексу окиснюваної модифікації білків в епітеліальних клітинах. Раціоналізаторська пропозиція №6/18 від 09.01.2018р. *(Особистий внесок: здобувачу належить ідея, оформлено супровідну документацію).*

Додаток Ж

Таблиця – Звичайні та скореговані для залізодефіцитної анемії вагітних нормативи діапазонів відсотків хоріальних ворсинок у терміни вагітності 29-32 та 33-36 тижнів

Типи вільозних утворень	Відсотки різних типів вільозних утворень хоріального дерева плаценти людини (%)			
	Звичайні нормативи		Скореговані нормативи для випадків залізодефіцитної анемії вагітних	
	Терміни гестації (у повних тижнях вагітності)			
	28-32	33-36	29-32	33-36
Стовбурові «ранні» ворсинки	0,7-4,1	0,1-0,3	2,4-5,8	0,1-0,3
Стовбурові «пізні» ворсинки	1,6-9,4	3,4-6,2	5,5-13,3	3,4-6,2
Трофобластичні та вільозні відростки	1,0-5,2	0,9-3,1	1,0-5,2	0,9-3,1
Мезенхімальні ворсинки	0-1,2	0-0,7	0-1,2	0-0,7
Ембріональні ворсинки	0-2,7	0-2,5	0-2,7	0-2,5
Проміжні незрілі ворсинки	4,5-14,7	1,1-5,1	9,6-19,8	3,1-7,1
Проміжні зрілі ворсинки	25,8-49,4	8,4-32,4	14,0-37,6	16,8-30,4
Термінальні ворсинки	23,3-48,7	36,6-80,9	10,6-36,0	36,6-80,9
Термінальні «спеціалізовані» ворсинки	2,3-5,3	4,2-14,0	0,8-3,8	1,2-9,1